



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

KARINE MATHILDE CAMPESTRINI DALLAGNOL

**EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO MELHORA A RESILIÊNCIA AO
ESTRESSE E MODIFICA O PERFIL SENSORIO-EMOCIONAL-
COGNITIVO EM CAMUNDONGOS ADULTOS MACHOS E FÊMEAS
MANTIDOS EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS**

FLORIANÓPOLIS, SETEMBRO DE 2021

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

KARINE MATHILDE CAMPESTRINI DALLAGNOL

**EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO MELHORA A RESILIÊNCIA AO
ESTRESSE E MODIFICA O PERFIL SENSÓRIO-EMOCIONAL-
COGNITIVO EM CAMUNDONGOS ADULTOS MACHOS E FÊMEAS
MANTIDOS EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina como pré-requisito para obtenção do título de Doutora em Neurociências.

Orientador: Professor Dr. Adair Roberto Soares dos Santos[†]

Co-orientador: Professor Dr. Mauricio Peña Cunha

FLORIANÓPOLIS, SETEMBRO DE 2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Dallagnol, Karine Mathilde Campestrini
EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO MELHORA A RESILIÊNCIA AO
ESTRESSE E MODIFICA O PERFIL SENSÓRIO-EMOCIONAL-COGNITIVO
EM CAMUNDONGOS ADULTOS MACHOS E FÊMEAS MANTIDOS EM
CONDIÇÕES LABORATORIAIS / Karine Mathilde Campestrini
Dallagnol ; orientador, Adair Roberto Soares dos Santos,
coorientador, Maurício Peña Cunha, 2021.
132 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, , Programa de Pós-Graduação em , Florianópolis,
2021.

Inclui referências.

1. . 2. Exercício físico aeróbico. 3. Dimorfismo sexual.
4. Comportamento. 5. Correlação. I. Santos, Adair Roberto
Soares dos . II. Cunha, Maurício Peña. III. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em .
IV. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
Centro de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Neurociências
CEP: 88040-900 - Florianópolis – SC - Telefone: (48) 3721-2713

Ata de sessão de defesa de Tese de Doutorado de Karine Mathilde Campestrini Dallagnol

Aos dezesseis dias do mês de Setembro de 2021, às 14h00min, por videoconferência, realizou-se a sessão de apresentação e defesa da Tese de Karine Mathilde Campestrini Dallagnol, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Neurociências, da Universidade Federal de Santa Catarina. A Comissão Examinadora, consoante à Portaria nº 030/2021/PGN, esteve constituída pelos membros Doutores Caroline Cunha do Espírito Santo - participação por videoconferência (Faculdade Anhanguera), Guilherme Fleury Fina Speretta - participação por videoconferência (Universidade Federal de Santa Catarina) e Luiz Fernando Freire Royes - participação por videoconferência (Universidade Federal de Santa Maria) como Membros Titulares, e Luana Meller Manosso - participação por videoconferência (Faculdades Esucni) e Morgana Duarte da Silva - participação por videoconferência (Universidade Federal de Santa Catarina) como Membros Suplentes. A Tese apresentada teve o seguinte título: “EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO MELHORA A RESILIÊNCIA AO ESTRESSE E MODIFICA O PERFIL SENSÓRIO-EMOCIONAL-COGNITIVO EM CAMUNDONGOS ADULTOS MACHOS E FÊMEAS MANTIDOS EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS PADRÃO”. Após a exposição do trabalho pela candidata, a discente foi arguida pelos membros da Comissão Examinadora e coube à candidata responder aos questionamentos da Comissão. Karine Mathilde Campestrini Dallagnol foi considerada **APROVADA**. A Comissão Examinadora solicitou as seguintes alterações na Tese:

Incorporação integral das sugestões e propostas de modificações na versão escrita da tese. Em especial, solicitou-se que fosse reformulado gráficos e adicionado outros. Além disso, alguns detalhes de forma e gramática foram também requeridos.

A aluna terá até 60 (sessenta) dias, a partir da presente data, para fazer as alterações solicitadas pela Comissão Examinadora e submeter a cópia corrigida da Tese à Biblioteca Universitária (UFSC). Caso não haja alteração, o prazo é de 30 (trinta) dias. **O não cumprimento deste prazo acarretará em consequências legais de acordo com a legislação vigente nesta Universidade.**

Após o encerramento da sessão, eu, Dr. Maurício Peña Cunha, lavrei a presente ata que, se aprovada, vai assinada pelos demais membros da Comissão Examinadora e pela Doutoranda.

Florianópolis, 16 de setembro de 2021.

gov.br Documento assinado digitalmente
 Mauricio Pena Cunha
 Data: 17/11/2021 08:52:27-0300
 Verifique em <https://verificador.ifi.br>

Dr. Mauricio Peña Cunha
 (participação por videoconferência)
 Coorientador

gov.br Documento assinado digitalmente
 Guilherme Fleury Fina Speretta
 Data: 22/11/2021 09:01:41-0300
 CPF: 31.7.757.018-32
 Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Dr. Guilherme Fleury Fina Speretta
 (participação por videoconferência)

gov.br Documento assinado digitalmente
 Karine Mathilde Campestrini Dallagnol
 Data: 17/11/2021 13:44:25-0300
 Verifique em <https://verificador.ifi.br>

Karine Mathilde Campestrini Dallagnol
 Doutoranda

gov.br Documento assinado digitalmente
 CAROLINE CUNHA DO ESPIRITO SANTO
 Data: 19/11/2021 10:19:08-0300
 CPF: 009.248.849-83
 Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Dra. Caroline Cunha do Espírito Santo
 (participação por videoconferência)

gov.br Documento assinado digitalmente
 Luiz Fernando Freire Royes
 Data: 25/11/2021 16:33:28-0300
 CPF: 626.930.850-04
 Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Dr. Luiz Fernando Freire Royes
 (participação por videoconferência)

Karine Mathilde Campestrini Dallagnol

Exercício Físico Aeróbico Melhora a Resiliência ao Estresse e Modifica o Perfil Sensório-Emocional-Cognitivo em Camundongos Adultos Machos e Fêmeas Mantidos em Condições Laboratoriais

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Luiz Fernando Freire Royes
Universidade Federal de Santa Maria

Prof.^a Dra. Caroline Cunha do Espírito Santo
Faculdade Anhanguera

Prof. Dr. Guilherme Fleury Fina Speretta
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Dra. Luana Meller Manosso
Faculdade Esucri

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutora em Neurociências.

Prof. Dr. Eduardo Luiz Gasnhar Moreira
Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Dr. Mauricio Peña Cunha
Co-Orientador

Florianópolis, 2021

Dedico esta tese à minha irmã Monica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Deus do Universo, que iluminou meu caminho e colocou anjos junto a mim para que eu enfrentasse essa jornada e, em meio às quedas, eu pudesse me levantar e continuar minha trajetória.

Aos meus pais Osmarina e Eloi, meus irmãos Mônica e Onório, e meu namorado Marco Aurélio, por me darem apoio sincero, abraços em dias difíceis, palavras de carinho e força. Por acreditarem em mim.

Aos meus filhos de quatro patas Pipoca, Jujuba, Jeff, Noa, Muffi (*Im memoriam*), Prada, Chloe e Penny, pelo amor incondicional.

A mim, por ter me encontrado quando me perdi frente a tantas ervas daninhas no caminho. Agradeço por eu ter retomado minhas forças quando cheguei ao fundo do poço acreditando que não conseguiria terminar meu doutorado. Agradeço por minhas amigas terem segurado em minhas mãos e me mostrado que eu era capaz de enfrentar os obstáculos e conquistar meu sonho.

À Amanda Miroski por ter sido minha aluna de iniciação científica: tão maravilhosa, tão dedicada, que me auxiliou durante vários meses!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradeço também à UFSC por ter proporcionado a concretização deste sonho, cedendo estrutura, ensino e apoio financeiro.

Agradeço *In memoriam* ao meu orientador prof. Dr. Adair que acreditou no meu projeto de pesquisa e abriu as portas do seu laboratório experimental. Agradeço à toda equipe LANDI, que me acolheram quando eu troquei de orientação e me auxiliaram em minha pesquisa.

Aos professores Eduardo, Guilherme, Maurício e Luiz Fernando por terem conduzido e lapidado minha pesquisa.

Ao professor Maurício, em especial, por ter aceitado me coorientar após a lamentável perda do professor Adair.

Aos grandes amigos que fiz ao longo dessa minha trajetória na UFSC, Camila, Rosane, Isabela, Andrea. E não menos importante, aos grandes amigos que fiz em Florianópolis e que me incentivaram, apoiaram e me auxiliaram de alguma forma a realizar esta tese.

Aos camundongos do laboratório, que serviram de instrumento para a minha pesquisa e me ensinaram quão amorosos podem ser com os humanos. A eles também devo todo o meu respeito.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desta pesquisa.

“Hoje eu queria muito agradecer a mim
porque eu não desisti.”

Anitta

RESUMO

Homens e mulheres diferem não apenas no desenvolvimento cerebral, mas também na fisiologia, psicologia e respostas comportamentais. Esse dimorfismo sexual se estende à percepção dos estímulos sensoriais, respostas emocionais e capacidade cognitiva. É bem estabelecido na literatura científica que o exercício físico aeróbico possa atenuar as respostas à estímulos dolorosos, bem como melhorar o humor e a memória dos indivíduos, mas não está completamente elucidado a correlação existente entre os aspectos sensoriais, emocionais e cognitivos em tais efeitos. Além disso, a importância do sexo nos efeitos sensoriais e comportamentais induzidos pelo exercício físico aeróbico também é outro ponto a ser estudado e compreendido. Neste sentido, o presente estudo avaliou o efeito do exercício físico aeróbico sobre o perfil sensorial-emocional-cognitivo em camundongos adultos machos e fêmeas mantidos em condições laboratoriais. Os experimentos foram conduzidos utilizando camundongos *Swiss* machos e fêmeas, com 2-3 meses de idade, divididos nos seguintes grupos experimentais: machos controles; fêmeas controles; machos exercitados; fêmeas exercitadas. O protocolo de exercício físico aeróbico consistiu na exposição dos camundongos à uma esteira de corrida adaptada para roedores em uma velocidade constante de 10 m/min, durante 30 minutos/dia, por um período de cinco dias por semana, durante duas semanas. O presente estudo acompanhou o peso corporal e o consumo alimentar dos animais submetidos ao protocolo experimental de exercício físico. Além disso, após 24 horas da última exposição dos animais à esteira de corrida, os animais foram submetidos aos testes comportamentais sequencialmente (teste de sensibilidade mecânica aos filamentos de Von Frey, teste de sensibilidade ao frio pela exposição à acetona, labirinto em cruz elevado, teste do reconhecimento do objeto novo, teste de esquiva inibitória do tipo *step down*, teste de suspensão pela cauda e/ou teste do campo aberto). O exercício físico aeróbico preveniu o ganho de peso corporal em animais de ambos os sexos. Além disso, os grupos exercitados apresentaram hipoalgesia aos estímulos mecânicos e térmicos quando comparado aos grupos controles. Ainda, os animais exercitados apresentaram respostas comportamentais indicativas de um comportamento tipo antidepressivo e maior resiliência ao estresse agudo, ou seja, um aumento das respostas ativas de enfrentamento à uma situação estressante. O exercício físico também induziu efeitos positivos sobre a memória aversiva de longo prazo e de reconhecimento de objetos nos testes de esquiva inibitória de descida do

tipo *step down* e reconhecimento de objetos, respectivamente. Os efeitos comportamentais observados não foram associados a alterações na atividade locomotora. Em suma, conclui-se que o protocolo de exercício físico proposto alterou o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos adultos machos e fêmeas mantidos em condições laboratoriais. Além disso, nossos resultados demonstram uma forte correlação entre as variáveis comportamentais analisadas: somestesia através do teste de Von Frey X memória aversiva no teste de esquiva inibitória de descida do tipo *Step Down* X comportamentos de enfrentamento ao estresse através dos testes de suspensão pela cauda e labirinto em cruz elevado. Conclusivamente, os nossos resultados indicaram que camundongos fêmeas, comparados aos camundongos machos, apresentaram maior sensibilidade tátil e térmica e ambulação, bem como menor tempo de avaliação de risco e retenção de memória aversiva. Nossos resultados também sugerem que o protocolo de exercício físico aeróbico gerou efeito ansiolítico, resiliência, hipostesia e melhorou a cognição dos animais frente a estímulos estressantes.

Palavras-chave: Exercício físico aeróbico; Dimorfismo sexual; Ansiedade; Resiliência; Memória; Sensibilidade mecânica e térmica; Correlação.

ABSTRACT

Men and women differ not only in brain development but also in physiology, psychology, and behavioral responses. This sexual dimorphism extends to the sensory stimuli perception, emotional responses and cognitive ability. It is well established in the literature that aerobic physical exercise might attenuate responses to painful stimuli, as well as improve mood and memory of those desired, but the correlation between sensory, emotional and cognitive aspects in such effects has not been completely elucidated. Furthermore, the importance of sex in the sensory and behavioral aerobic physical exercise-induced effects is also another point to be studied and understood. In this sense, the present study evaluated the effect of aerobic physical exercise on the sensory-emotional-cognitive profile in adult male and female mice under laboratory conditions. The experiments were carried out using Swiss male and female mice, 2-3 months old, separated into the following experimental groups: control males; control female; exercised males; exercised female. The aerobic exercise protocol consisted of exposing the mice to a running treadmill adapted for rodents at a constant speed of 10 m/min, for 30 minutes/day, for a period of five days a week, for two weeks. The present study followed the body weight and food consumption of the animals evaluated in the experimental exercise protocol. In addition, 24 hours after last exposure to the treadmill, the animals were sequentially subjected in behavioral tests (Von Frey filament mechanical sensitivity test, cold sensitivity test by acetone exposure, elevated plus maze, new object recognition test, step down inhibitory avoidance test, tail suspension test and/or open field test). Aerobic exercise prevented body weight gain in animals of both sexes. In addition, the exercised groups presented hypoalgesia to mechanical and thermal stimuli when compared to the control groups. In addition, exercised animals showed behavioral responses indicative of antidepressant-like behavior and greater resilience to acute stress, that is, an increase in active coping responses with a stressful situation. Physical exercise also induced positive effects on long-term aversive memory and object recognition in the step-down inhibitory avoidance and object recognition tests, respectively. The behavioral effects observed were not associated with changes in locomotor activity. In summary, it is concluded that the proposed physical exercise protocol changed the sensory-emotional-cognitive profile of adult male and female mice kept in laboratory conditions. Furthermore, our results demonstrate a strong correlation between the behavioral variables analyzed: somesthesia through the Von Frey test VS. aversive memory in the step-down

inhibitory avoidance test VS. stress coping behaviors through the tail suspension and elevated plus maze tests. In conclusion, our results indicated that female mice, compared to male mice, had greater tactile and thermal sensitivity and ambulation, as well as shorter risk assessment time and aversive memory retention. In addition, our results also suggest that the aerobic physical exercise protocol generated anxiolytic effect, resilience, hypoesthesia and improved the animals' cognition when faced with stressful stimuli.

Keywords: Aerobic exercise; sexual dimorphism; Anxiety; Resilience; Memory; Mechanical and thermal sensitivity; Correlation.

LISTA DE FIGURAS:

Figura 1 Alojamento dos animais no Biotério Setorial - LANDI.....	42
Figura 2 Esquema representativo do desenho experimental – padrão com o respectivo protocolo de exercício físico e as análises realizadas.....	49
Figura 3 Esquema representativo do Desenho Experimental referente ao 1º Coorte de animais utilizados com o respectivo protocolo de exercício físico e os testes comportamentais analisados.....	49
Figura 4 Esquema representativo do Desenho Experimental referente ao 2º Coorte de animais utilizados com o respectivo protocolo de exercício físico e os testes comportamentais analisados:.....	49
Figura 5 Esquema representativo do Desenho Experimental referente ao 3º Coorte de animais utilizados com o respectivo protocolo de exercício físico e os testes comportamentais analisados.....	50
Figura 6 Avaliação da capacidade cardiorrespiratória no Teste de Esforço Incremental em camundongos adultos machos e fêmeas submetidos ao protocolo de exercício físico aeróbico.....	51
Figura 7 Acompanhamento do peso corporal e consumo de ração em camundongos adultos machos e fêmeas submetidos ao protocolo de exercício físico aeróbico.....	54
Figura 8 Efeito do exercício físico aeróbico sobre a sensibilidade mecânica e térmica ao frio em camundongos adultos machos e fêmeas.....	57
Figura 9 Atividade locomotora em camundongos adultos machos e fêmeas submetidos ao protocolo de exercício físico aeróbico.....	58
Figura 10 Avaliação do tempo de permanência no centro e periferia no campo aberto em camundongos adultos machos e fêmeas submetidos ao protocolo de exercício físico aeróbico.....	59
Figura 11 Efeito tipo-ansiolítico e de resiliência ao estresse induzidos pelo exercício físico aeróbico.....	60
Figura 12 Efeito do Exercício Físico Aeróbico sobre a memória espacial e associativa de camundongos machos e fêmeas.....	63
Figura 13 Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos machos e fêmeas, controles e exercitados – Uma visão geral.....	64

Figura 14 Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos machos, controles e exercitados.....	66
Figura 15 Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos fêmeas, controles e exercitadas.....	67
Figura 16 Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos exercitados, machos e fêmeas.....	69
Figura 17 Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos machos controles.....	72
Figura 18 Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos machos exercitados.....	73
Figura 19 Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos fêmeas controles.....	74
Figura 20 Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos fêmeas exercitadas.....	76
Figura 21 Correlação entre o peso corporal e velocidade máxima no teste de esforço incremental de camundongos machos e fêmeas exercitados.....	78
Figura 22 Correlação entre a variação do peso corporal e a velocidade máxima no teste de esforço incremental de camundongos machos e fêmeas exercitados.....	79
Figura 23 Resumo dos efeitos do exercício físico aeróbico sobre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos machos e fêmeas.....	101
Figura 24 Dimorfismo sexual no perfil sensório-emocional-cognitivo em camundongos mantidos em condições laboratoriais.....	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Interpretação do coeficiente de correlação de Pearson e Sperman.....	50
Tabela 2 Força dos fatores de correlações comportamentais analisados sob diferentes agrupamentos.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT1B: Receptor de 5-hydroxitriptamina 1B

5-HT2A Receptor de 5-hydroxitriptamina 2A

5-HT2C: Receptor de 5-hydroxitriptamina 2C

5-HT: 5-hydroxitriptamina, serotonina

ACSM: Colégio americano de medicina e esporte

AMP: Adenosina monofosfato

AMPK: Proteína cinase ativada por AMP

ATP: Adenosina trifosfato

BDNF: Fator neurotrófico derivado do cérebro

BHE: Barreira hematoencefálica

CO₂: Dióxido de carbono

FNDC5: Domínio 5 contendo Fibronectina Tipo III

FOXO: Classe O de fatores de transcrição do *forkhead box*

H₂O: Hidreto de oxigênio (água)

HIV: Vírus de imunodeficiência humana

HPA: Hipotálamo-pituitária-adrenal

IGF: Fator de crescimento semelhante à insulina

IMC: Índice de massa corporal

LANDI: Laboratório de neurobiologia da dor e inflamação

MAPK: Proteína cinase ativada por mitógeno

MK-801: Hidrogenomaleato de dizocilpina

NFR: Fator de respiração nuclear

PGC-1 α : Coativador gama 1-alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma

PPAR- α : Receptor ativado por proliferador de peroxissoma α

PYY3-36: Peptídeo YY 3-36

RNA_m: RNA – do inglês ácido ribonucleico – mensageiro

SNC: Sistema nervoso central

VO₂ máx: consumo máximo de oxigênio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	24
1.1. DIMORFISMO SEXUAL CEREBRAL E COMPORTAMENTOS ASSOCIADOS.....	24
1.1.1. O Dimorfismo Sexual e a Emocionalidade.....	25
1.1.2. Dimorfismo Sexual e Cognição.....	27
1.1.3. Dimorfismo Sexual e Percepção Sensorial.....	29
1.2. EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO.....	31
1.2.1. Exercício Físico Aeróbico e o Perfil Sensório-Emocional-Cognitivo.....	34
1.2.2. O Papel do Dimorfismo Sexual nos Efeitos do Exercício Físico Aeróbico.....	37
2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE.....	39
3. OBJETIVOS.....	40
3.1. OBJETIVO GERAL.....	40
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	40
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	41
4.1 ANIMAIS.....	41
4.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	42
4.3. TESTES COMPORTAMENTAIS.....	43
4.3.1. Teste De Esforço Incremental Em Esteira Rolante.....	43
4.3.2. Avaliação do Consumo de Ração e Peso Corporal.....	43
4.3.3. Protocolo de Exercício Aeróbico em Esteira.....	44
4.3.4. Teste de Von Frey – Up & Down.....	45
4.3.5. Teste de Sensibilidade Térmica ao Frio.....	45
4.3.6. Teste de Campo Aberto.....	46
4.3.7. Teste de Suspensão Pela Cauda.....	46
4.3.8. Labirinto em Cruz Elevado.....	47
4.3.9. Teste de Reconhecimento de Objetos.....	47
4.3.10. Teste de Esquiva Inibitória de Descida do Tipo Step Down.....	48
4.4. DESENHO EXPERIMENTAL.....	49

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	50
5. RESULTADOS.....	51
5.1 OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO SOBRE A INGESTÃO ALIMENTAR E PESO CORPORAL DE ANIMAIS MACHOS E FÊMEAS.....	51
5.1.2. Teste de Esforço Incremental Demonstra Desempenho Semelhante Entre Machos e Fêmeas.....	51
5.1.3. Exercício Físico Aeróbico Previne Ganho de Peso Corporal em Camundongos Machos e Fêmeas, Aumentando A Ingestão Alimentar de Forma Diferente Entre os Sexos.....	52
5.2. OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO SOBRE AS RESPOSTAS SOMESTÉSICAS DOS ANIMAIS FRENTE AOS ESTÍMULOS TÉRMICOS E MECÂNICOS.....	54
5.2.1. Exercício Físico Aeróbico é Suficiente Para Modificar o Limiar de Sensibilidade em Camundongos Machos e Fêmeas.....	54
5.3. OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO SOBRE A LOCOMOÇÃO ESPONTÂNEA E AS RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS DOS ANIMAIS FRENTE À ESTÍMULOS ESTRESSANTES.....	57
5.3.1. Exercício Físico Aeróbico Altera a Atividade Locomotora de Camundongos Adultos de Forma Distinta Entre Machos E Fêmeas no Teste de Campo Aberto.....	57
5.3.2. Efeitos Ansiolítico e de Resiliência ao estresse induzidos pelo Exercício Físico Aeróbico em Camundongos Machos e Fêmeas Mantidos em Condições Laboratoriais.....	58
5.4. OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO SOBRE O PREFIL COGNITIVO E APRENDIZAGEM DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A TAREFAS DE MEMÓRIA.....	61
5.4.1. Exercício Físico Aeróbico Impacta A Memória Espacial E Associativa Condicionada Ao Medo Em Camundongos, De Forma Diferente Entre Machos E Fêmeas.....	60
5.5. CORRELAÇÃO ENTRE OS FATORES SENSORIAIS, EMOCIONAIS E COGNITIVOS SOB DIFERENTES PERSPECTIVAS.....	64
5.6. CORRELAÇÃO ENTRE OS FATORES SENSORIAL, EMOCIONAL E COGNITIVO E O PROGRAMA DE EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO EM	

CAMUNDONGOS MACHOS E FÊMEAS MANTIDOS EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS	70
5.7. CORRELAÇÃO ENTRE O PESO CORPORAL E DESEMPENHO AERÓBICO NO TESTE DE ESFORÇO INCREMENTAL EM CAMUNDONGOS MACHOS E FÊMEAS.....	78
6. DISCUSSÃO.....	80
7. CONCLUSÃO.....	99
8. REFERÊNCIAS.....	103

1. INTRODUÇÃO

Embora seja estabelecido cientificamente que o exercício físico promove a saúde física e mental e contribui para a prevenção de doenças, a literatura carece de estudos que acenem com a importância integrada da ansiedade, resiliência, sensibilidade à estímulos sensoriais e cognição nos efeitos do exercício físico. Neste sentido, análises integradas dos comportamentos dos animais podem gerar uma maior compreensão de como o efeito do exercício físico em determinado padrão comportamental pode interferir em outros aspectos comportamentais e sensoriais.

No presente estudo nós buscamos entender como camundongos machos e fêmeas submetidos à um protocolo de exercício físico aeróbico respondem ao mesmo estímulo sensorial, cognitivo e emocional, gerando uma discussão pautada na translação desses resultados aos homens e mulheres inseridos em programas de exercício físico. Diga-se de passagem, as bases biológicas, bem como as repostas diante de estímulos ambientais, diferem significativamente entre indivíduos de sexos distintos. Nesse contexto, a literatura reporta que o sexo dos indivíduos analisados é um fator importante a ser analisado como interferente nas respostas comportamentais (Oertelt-Prigione et al., 2014; Dennis, 2004; Dewing et al., 2003). Especificamente, o perfil sensório-emocional-cognitivo parece estar interconectado e um componente individual (como por exemplo o emocional) pode influenciar na resposta do outro fator (como o cognitivo, por exemplo) (Eccleston e Crombes, 1999; Eysenck et al., 2007; Moran, 2016; Andreano e Cahill, 2009; Elsenbruch et al., 2010; Gungor e Johansen, 2019; Bliss et al., 2016). Dentro deste contexto, esta tese enfatiza os efeitos do exercício físico aeróbico *per se*, avaliando a possível correlação de seus efeitos ansiolítico/resiliência, aprendizado/memória e analgesia, tão consagrados na literatura. Sendo assim, o estudo acena com a compreensão integrada dos efeitos do exercício físico aeróbico no perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos adultos machos e fêmeas, mantidos em condições laboratoriais.

1.1. DIMORFISMO SEXUAL CEREBRAL E COMPORTAMENTOS ASSOCIADOS

Existe uma diferença importante entre sexo e gênero, em que “sexo” designaria apenas diferenças biológicas, enquanto “gênero” inclui aspectos sociais, culturais e econômicos, bem como noções políticas (Oertelt-Prigione et al., 2014). Neste sentido, a terminologia “dimorfismo sexual” está amplamente associada com as características

físicas não sexuais marcadamente diferentes de indivíduos do sexo masculino e feminino de uma mesma espécie. O dimorfismo sexual em seres humanos se observa sobretudo por cinco fatores ao nascer: a presença ou ausência do cromossomo Y, o tipo de gônadas, hormônios sexuais, anatomia reprodutiva interna e a genitália externa (Knox e Schacht, 2011). Entretanto, na fase adulta o dimorfismo sexual pode ser observado em distintos tecidos e órgãos, como o cérebro.

Uma característica marcante do cérebro de mamíferos é o seu dimorfismo sexual, tanto estruturalmente quanto funcionalmente (Pallayova, Brandeburova e Tokarova, 2019). Durante o período gestacional, hormônios sexuais como a testosterona (em machos) e estrogênio (em fêmeas) são abundantemente expressos no córtex cerebral e hipocampo, determinando o desenvolvimento de áreas específicas ligadas ao sexo, alterações morfológicas, quantidade de neurônios, distribuição de neurotransmissores, bem como modulação de genes associados à neuroplasticidade (Frick e Gresack, 2003; Dennis, 2004; Dewing et al., 2003; Goldstein et al., 2001). Essas diferenças orgânicas resultam em habilidades, comportamentos e condições de saúde distintas entre os sexos. Assim sendo, para um mesmo estímulo podem existir respostas comportamentais diferentes para homens e mulheres. O dimorfismo sexual cerebral está intimamente ligado às condições psico-fisiológicas, diferindo quanto a homeostase corporal, e habilidades cognitivas e físicas, inclusive a propensão ao desenvolvimento de neuropatologias.

Apesar de diversas evidências gerarem uma maior compreensão do impacto do dimorfismo sexual nas mais variadas respostas sensoriais, cognitivas e comportamentais, ainda existe uma grande carência de pesquisas que comparem o impacto e a importância do sexo no perfil sensório-emocional-cognitivo em indivíduos não expostos a condições patológicas. Neste sentido, estudos comparando o perfil comportamental de indivíduos de ambos os sexos podem acenar com distinções importantes a serem compreendidas na emocionalidade, cognição e respostas sensoriais.

1.1.1. O Dimorfismo Sexual e a Emocionalidade

Emoções são estados funcionais em resposta a estímulos que modificam as atividades neurais e, assim, conduzem uma sequência de comportamentos complexos (Helion, Krueger e Ochsner, 2019; Adolphs, 2017). A emocionalidade

também difere quanto ao sexo. Por exemplo, estudos de neuroimagem demonstram através da ativação de regiões cerebrais específicas que mulheres respondem mais que os homens aos estímulos negativos (como por exemplo: imagens de pessoas acidentadas, mutiladas e ataques de animais), enquanto homens respondem mais que as mulheres aos estímulos positivos (como por exemplo: imagens de família, festas e aventuras) (Stevens e Hamann, 2012). A divergente ativação de estruturas subcorticais entre homens e mulheres durante a reatividade frente à um evento de ordem emocional sugere que esse é um importante componente estrutural a ser considerado tanto na psicologia clínica quanto na psiquiatria.

O estresse é o principal componente emocional desencadeante de transtornos psiquiátricos, como depressão e ansiedade. Digno de nota, a prevalência de muitas doenças neuropsiquiátricas difere entre homens e mulheres. Por exemplo, Green, Flash e Reiss (2019) avaliaram as diferenças sexuais nos transtornos psiquiátricos, indicando que os homens são mais suscetíveis a distúrbios do neurodesenvolvimento, incluindo transtorno do espectro autista, transtorno de déficit de atenção, esquizofrenia e doenças associadas à comprometimentos no sistema de neurotransmissão dopaminérgico (incluindo a doença de Parkinson), enquanto que mulheres, após a puberdade, são mais suscetíveis ao transtorno depressivo maior e transtornos de ansiedade (Green et al. 2019; Loke, Harley e Lee, 2015). Neste sentido, estudos revelam que essa maior susceptibilidade de mulheres a transtornos psiquiátricos, como ansiedade e depressão, está relacionada a alterações hormonais que ocorrem durante o ciclo menstrual, menopausa, pós-parto (por exemplo), indicando a importância dos hormônios sexuais na etiologia dessas doenças (Ahmed et al., 2008; Ahoka et al., 2001; Seedat et al., 2009; Solomon et al., 2009; Solomon e Herman, 2009). Além disso, estudos clínicos e pré-clínicos sugerem que a testosterona possa exercer um efeito protetor em homens frente a tais neuropatologias (Shores et al., 2004; Zarrouf et al., 2009). Corroborando com esses estudos, mulheres com transtornos de ansiedade e de depressão maior apresentaram melhora dos sintomas quando tratadas com testosterona (Miller et al., 2009; Shifren et al., 2000; Hermans et al., 2006).

A resiliência é o fenômeno baseado na habilidade individual em manter a funcionalidade homeostática física e mental quando expostos a situações de estresse (Russo et al., 2012). Em outras palavras, a resiliência emocional é a capacidade de gerar respostas comportamentais positivas e recuperação rápida diante de

experiências emocionais negativas (Davidson, 2000). Dentro desse contexto, o presente estudo também tentou evidenciar diferenças nos padrões de resiliência entre os sexos. Além disso, um outro aspecto amplamente relacionado ao estresse emocional e investigado no presente trabalho foi a ansiedade. A ansiedade é uma resposta adaptativa natural a estímulos percebidos como perigosos. A ansiedade é considerada um aspecto importante a ser observado entre as espécies ao longo da evolução, desde que apresenta um papel crucial na sobrevivência dos indivíduos (Marques et al., 2016; Gross e Hen, 2004; Dias et al., 2009). No entanto, as respostas neuroquímicas e comportamentais desencadeadas pela ansiedade, quando se tornam constantes e prolongadas (inclusive diante de estímulos neutros e/ou não estressores), podem indicar um estado de ansiedade patológica (Marques et al., 2016; Gross e Hen, 2004; Dias et al., 2009).

Existem diversas alterações neuroendócrinas homeostáticas que regulam os padrões comportamentais associados à habilidade de resiliência e da ansiedade. Dentre estes, podemos destacar as alças de feedback negativo no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), bem como a ativação de regiões encefálicas regulatórias deste eixo, como a amígdala, substância cinzenta periaquedutal e o hipocampo (Cohen et al., 2012; Kim e Gorman, 2005; Price e Drevets, 2010; Taliáz et al., 2011). Segundo alguns estudos, animais fêmeas apresentam maior ativação do eixo HPA, comparado aos machos, em tarefas comportamentais estressantes, apresentando um perfil comportamental mais ansioso e depressivo (Gonzalez-Castañeda et al., 2015; Munive, Santi e Torres-Aleman, 2016; Dugandzic, Ratko e Habek, 2019). Além disso, Mikolajczak e colaboradores (2008) demonstraram que pessoas resilientes apresentavam menor responsividade do eixo HPA em testes de exposição ao estresse. A habilidade de resiliência parece depender, também, de outros fatores biológicos (alterações hormonais), epigenética e fatores psicossociais, que podem divergir muito entre homens e mulheres (Hodes e Epperson, 2019; Ripar e Evangelista, 2008).

1.1.2. Dimorfismo Sexual e Cognição

Enquanto o aprendizado é a aquisição de informação, a memória corresponde ao processo de armazenamento e manutenção do aprendizado, estando disponível para evocações futuras (Squire, 1998; Squire, 2004). A memória envolve três fases iniciais, sendo elas: aquisição, consolidação/armazenamento e evocação que, por sua

vez, depende da função adequada de regiões como o hipocampo, amígdala, gânglios basais, lobos temporal e medial e cerebelo (Henke, 2010; Izquierdo et al., 1998).

Diversos cientistas têm documentado diferenças neurobiológicas entre os sexos de extrema relevância e importância para as funções cognitivas e para o processo de memória\aprendizado (Andreano e Cahill, 2009). Evidências comportamentais indicam um importante efeito do sexo a ser considerado sobre as análises dos diferentes tipos de memória. Algumas tarefas de aprendizado\memória apresentam um melhor desempenho por homens, enquanto outras são executadas com mais facilidade por mulheres. Por exemplo, um melhor desempenho de homens na memória de trabalho e uma maior facilidade e rendimento de mulheres na tarefa de localizar objetos está sendo amplamente relatado na literatura científica, sugerindo que as estratégias de resolução das tarefas de aprendizado são diferentes entre homens e mulheres (Suchan et al., 2006; McBurney et al., 1997). Em contrapartida, Lawton (1994) afirma que apesar de homens e mulheres usarem estratégias diferentes para a resolução de uma mesma tarefa de aprendizado, o desempenho parece ser similar entre os sexos. No entanto, algumas tarefas de aprendizagem podem desencadear mais ansiedade em mulheres do que em homens, prejudicando o desempenho das mesmas em tais tarefas (Andreano e Cahill, 2009).

Existe uma forte correlação entre a emocionalidade e a memória e esta conexão também pode apresentar resposta distinta entre os sexos. Por exemplo, pesquisas em animais demonstram que a exposição aguda à um agente estressor prejudica a memória de camundongos fêmeas, mas não a de machos (Shors et al., 2007). McCormick e colaboradores (2007) demonstraram que os níveis de cortisol estão inversamente correlacionados com o perfil de memória espacial em homens no teste de estresse social, mas não apresenta qualquer correlação com este tipo de memória em mulheres. No entanto, o cortisol parece facilitar a memória condicionada ao medo em homens, mas prejudicar o mesmo tipo de memória em mulheres (Wolf et al., 2001; Jackson et al., 2006; Zorawski et al., 2005). Assim, a compreensão do papel do estresse na formação e consolidação de memórias ainda necessita de uma maior compreensão.

Além disso, existe uma teoria que interconecta doenças relacionadas ao estresse, como a ansiedade e depressão, com o prejuízo na memória\aprendizagem (Eccleston e Crombes, 1999; Eysenck et al., 2007; Eysenck e Calvo, 1992; Moran, 2016; Ikeda et al., 1996; Shackman, et al., 2006). Como a ansiedade está associada

a um menor foco de atenção em tarefas de aprendizagem, transtornos de ansiedade parecem estar amplamente associados com uma redução na quantidade de atenção disponível para executar as tarefas e um comprometimento na memória de trabalho. Em consonância, Moran (2016) afirma que a ansiedade estaria atrelada a “auto preocupação”, justificando a redução da atenção à tarefa e, por conseguinte, prejudicando o aprendizado. Neste sentido, estudos que avaliam o desempenho cognitivo na realização de dupla-tarefa indicam que indivíduos ansiosos apresentam pior desempenho comparado aos não ansiosos na execução das tarefas, como por exemplo uma tarefa de memória combinada com uma tarefa de raciocínio (Eysenck, Payne e Derakshan, 2005; Derakshan e Eysenck, 1998).

Existem alguns autores defendendo que o dimorfismo sexual presente em tarefas de aprendizado e memória pode estar associado a distinções nos padrões dos hormônios sexuais. Por exemplo, algumas evidências apontam que o estradiol estaria envolvido na extinção da memória em testes de medo condicionado em mulheres (Zeidan et al., 2011; Taxier, Gross e Frick, 2020; McDermott et al., 2015; Maeng et al., 2017; Graham e Milad, 2014). Quanto à memória de reconhecimento, Bowman e colaboradores (2009) demonstraram que animais machos submetidos ao estresse crônico apresentam prejuízo na memória comparado às fêmeas submetidas a mesma intervenção.

1.1.3. Dimorfismo Sexual e Percepção Sensorial

O sistema somatossensorial é formado por um conjunto de receptores sensoriais cutâneos mecânicos, térmicos e nociceptivos, e proprioceptivos musculoesqueléticos, que processam os estímulos sensoriais no nosso corpo (Cruccu et al., 2008; Kandel, 2014). Estes receptores captam os estímulos e os transmitem até o sistema nervoso central para que sejam processados e interpretados (Kandel, 2014). A percepção da dor envolve uma cascata de eventos celulares e moleculares até, finalmente, desencadear uma resposta comportamental. Estes eventos podem ser iniciados através de um estímulo periférico intenso ou suficiente para causar uma lesão tecidual que, por sua vez, ativa terminais nervosos e conduz este estímulo nervoso até a medula espinal, e daí até áreas superiores do encéfalo. No encéfalo o estímulo é conduzido pelo tálamo, córtex pré-frontal e somatossensorial, dentre outras regiões, tornando a dor consciente (Fenton, Shih e Zolton, 2015; Alves, Silveira, Vieira e Vidal,

2017). Contudo, a percepção da dor é muito complexa e subjetiva, podendo ser influenciada por questões emocionais e biológicas (Fenton, Shih e Zolton, 2015; Wise et al., 2002; Fillingim et al., 2009; Palmeira, Ashmawi e Posso, 2011).

A região encefálica da amígdala medial é uma região de grande destaque nos processos neuroemocionais e cognitivos e faz parte da rede social-emocional-sexual tanto de humanos quanto de roedores, estando atrelada não somente à ansiedade, mas também à percepção de dor (Frye e Walf, 2004; McHenry et al., 2013). A percepção de dor em adultos é subjetiva e depende de fatores biopsicossociais (por exemplo: hormônios sexuais, respostas inflamatórias, questões sociais de gênero, enfrentamento ao estímulo doloroso) (Fillingim, 2017). Diversas evidências demonstram que mulheres são mais propensas à dor crônica que homens, ressaltando a prevalência de algumas condições de dor específicas em mulheres, como: enxaqueca e dores de cabeça do tipo tensional, dor lombar, fibromialgia e dor generalizada, distúrbios temporomandibulares, síndrome do intestino irritável e osteoartrite (Fillingim et al., 2009; Mogil, 2012; Keogh, 2008; Sorge e Totsch, 2017). Para Mogil (2012), a predominância de pacientes mulheres com dores crônicas pode ser explicada por três motivos: 1) é possível que as mulheres procurem os serviços de saúde com mais assiduidade do que os homens e/ou estão mais dispostas a relatar dor em pesquisas, e assim seria contabilizado uma frequência mais elevada na percepção de dor em estudos epidemiológicos; 2) é possível que as mulheres tenham maior suscetibilidade a doenças crônicas comuns e síndromes de dor do que os homens e, portanto, seriam mais propensas a desenvolver condições que caracterizem a dor como um sintoma, e 3) é possível que as mulheres tenham uma maior sensibilidade para e/ou menor tolerância à dor do que os homens, levando a maiores percentagens de mulheres com um diagnóstico de "Síndrome de dor". Neste caso, os níveis de dor em síndromes de dor experimentadas por ambos os sexos seriam esperados serem mais elevados em mulheres.

Apesar dos dados da literatura científica serem robustos e consistentes em relação a alta prevalência de percepção de dor em indivíduos do sexo feminino, alguns estudos apontam que não há diferenças entre os sexos tanto na prevalência quanto na intensidade da dor. Nestes estudos, o fator diferencial atrelado ao dimorfismo sexual na percepção do estímulo doloroso poderia ser distinções nas estratégias de enfrentamento da dor, sugerindo que as mulheres são mais resilientes que os homens

(Fillingim et al., 2009; Lovgren et al., 2008; Schmidt et al., 2005; Ramírez-Maestre e Esteve, 2014; Keogh e Herdenfeldt, 2002).

Alguns mecanismos estão sendo propostos para explicar essas diferenças em relação a resposta/percepção aos estímulos dolorosos em indivíduos de sexos distintos. Essa distinta resposta de dor diante do dimorfismo sexual pode estar atrelada aos hormônios sexuais, sistema opioide endógeno e múltiplos fatores afetivo/cognitivo/sociais atrelados ao gênero (Fillingim et al., 2009; Mogil, 2012).

Evidências apontam que o aspecto emocional relacionado a percepção e resposta à dor é processado por regiões encefálicas corticolímbicas (Aloisi et al., 2011; Bliss et al., 2016; Tsigos et al., 2002; Nees et al., 2018; McBeth et al., 2005; General et al., 2014; Turner-Cobb et al., 2010). Neste sentido, estudos revelam que níveis de ansiedade podem estar relacionados à percepção de dor através da ativação de regiões corticais que participam de ambos os processos, como o córtex cingulado anterior e insular, bem como a amígdala (Elsenbruch et al., 2010; Gungor e Johansen, 2019; Bliss et al., 2016; Sachs-Ericsson et al., 2016). Conclusivamente, a literatura sugere que fatores emocionais podem influenciar diretamente na autopercepção de dor. Além disso, a interação entre dor, ansiedade e cognição também pode ser amplamente demonstrada em modelos animais e reforçam o papel das estruturas neuroanatômicas citadas acima nesta tríade (Robbins, DeBerry e Ness, 2007; Barthas et al., 2015; Etkin, Egner e Kalisch, 2011; Kim et al., 2011; Yagi e Galea, 2019). Um estudo muito interessante conduzido por Eccleston e Crombez (1999) demonstrou que indivíduos com dor crônica apresentavam pior desempenho em tarefas de memória comparados aos indivíduos sem dor. Embora exista uma interrelação entre ansiedade, memória e autopercepção de dor, a literatura científica ainda necessita de mais achados acerca desta tríade de forma integrada.

1.2. EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO

O exercício físico é definido como uma atividade física voluntária, repetitiva, planejada, estruturada e intencional, que objetiva a melhora ou manutenção de um ou mais componentes da aptidão física e do desempenho esportivo (Caspersen, 1985; WHO, 2010, 2014). Este representa um grande desafio à manutenção da homeostase corporal, gerando respostas agudas e adaptativas tanto em nível sistêmico, quanto em nível celular e molecular (Bassel-Duby e Olson, 2006; Coffey e Hawley, 2007; Egan

e Zierath, 2013). Durante o exercício físico regular ocorrem diversos mecanismos adaptôgenos no metabolismo celular e sistema redox, conferindo inúmeros benefícios à saúde humana (Booth e Lees, 2006). As adaptações ao exercício físico acontecem em diversos órgãos e sistemas fisiológicos, como por exemplo o músculo esquelético, fígado, tecido adiposo, pâncreas, ossos, cérebro, sistema imunológico, sistema circulatório e endócrino (Hawley et al., 2014).

Especificamente, o exercício físico aeróbico é caracterizado por ser realizado de forma contínua e prolongada. Segundo o Colégio Americano de Medicina do Esporte (do inglês *American College of Sports Medicine*, ACSM, 1998, 2018), os exercícios aeróbicos são compostos por movimentos cíclicos, que envolvem grandes grupos musculares e duram entre 20 e 60 minutos. O exercício físico aeróbico utiliza como principal substrato energético para o processo de contração muscular a oxidação completa de ácidos graxos e glicose à CO₂ e H₂O (Mc Ardle, Katch e Katch, 1998; Trefts, Williams e Wasserman, 2015).

Digno de nota, a adaptação dos miócitos ao exercício físico aeróbico envolve um complexo processo que inclui ativação de diversas cascatas de sinalização intra e intercelulares que regulam a transcrição de genes e a tradução de proteínas (Bouchard, Malina e Perusse, 1997; Izquierdo et al., 2004). A contração muscular em decorrência do exercício físico gera a hidrólise de ATP e um estresse energético celular (Egan e Zierath, 2013). Com a hidrólise de ATP e o aumento de adenosina monofosfato (AMP), um aumento na fosforilação da proteína cinase ativada por AMP (do inglês *AMP- Activated Protein Kinase* - AMPK) é observado. Neste sentido, AMPK é uma enzima amplamente sensível ao estresse energético celular, sendo amplamente considerada como um “sensor” energético (Pauli et al., 2009; Camera, Smiles e Hawley, 2016). AMPK fosforila proteínas alvo, incluindo coativadores transcricionais, como o coativador gama 1-alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma (do inglês *peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha* - PGC1- α). PGC-1 α recruta distintos fatores de transcrição [como o Classe O de fatores de transcrição do *forkhead box*, do inglês *class O of forkhead box transcription factors* (FOXO); receptor ativado por proliferador de peroxissoma α , do inglês *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR- α) e o fator de respiração nuclear, do inglês *nuclear respiratory factor* (NRF)] e assim regula a expressão de muitos genes associados ao metabolismo energético, como genes implicados na

oxidação de ácidos graxos, gliconeogênese e fosforilação oxidativa (Fan e Evans, 2015).

Recentemente, foi reportado que o músculo esquelético quando estimulado pelo exercício físico poderia estar sintetizando miocinas ou “exercinas”, e o coativador transcricional PGC-1 α parece estar amplamente envolvido na regulação desse processo (Lee et al., 2019). Existe uma lista extensa de “exercinas” conhecidas, como por exemplo interleucina 6, fibronectina tipo III contendo o domínio 5 (do inglês *fibronectin type III domain-containing protein 5* - FNDC5) e o produto de sua clivagem Irisina, catepsina-B, proteína tipo-meteorina, dentre outras (Lee et al., 2019). Essas miocinas podem cair na corrente sanguínea sistêmica e exercerem efeitos em órgãos distantes como o tecido adiposo, osso, cérebro, dentre outros. Digno de nota, essas “exercinas” produzem uma ativação de cascatas de transdução de sinais no sistema nervoso central (SNC), as quais estão amplamente implicadas na síntese de fatores neurotróficos, como o fator neurotrófico derivado do encéfalo (do inglês *brain-derived neurotrophic factor* - BDNF) e o fator de crescimento semelhante à Insulina 1 (do inglês *Insulin-like Growth Factor* - IGF-1) (Camera, Smiles e Hawley, 2016; Hood et al., 2018; Pedersen, 2019; Egan e Zierath, 2013; Mang et al., 2013; Wrann et al., 2013). No cérebro, o BDNF desempenha papel fundamental na plasticidade sináptica e neurogênese hipocampal e o IGF-1 atua na proliferação, diferenciação e manutenção da sobrevivência celular, ambos influenciando nas habilidades cognitivas, resiliência e humor (Kim et al., 2019; Cassilhas, Tufik e de Mello, 2016; Santos et al., 2021; Phillips, 2017; Taliaz et al., 2011). A soma desses eventos celulares e moleculares induzidos pelo exercício físico regular e contínuo está consideravelmente associada à uma alteração no estado basal do indivíduo para um novo limiar funcional, morfológico e metabólico, com efeitos benéficos para a saúde física e mental (Bickel et al., 2005; Coffey e Hawley, 2007; Abreu, Leal-Cardoso e Ceccatto, 2017; Holloszy et al., 1977; Alenghat e Ingber, 2002; Kumar et al., 2002; Castren e Rantamaki, 2008; Tsigos et al., 1997; Numakawa et al., 2011; Wu et al., 2009; MacDonald et al., 2003; Coffey e Hawley, 2007; Abreu, Leal-Cardoso e Ceccatto, 2017).

Os benefícios do exercício físico à saúde e qualidade de vida são bem estabelecidos na literatura através de estudos tanto em humanos quanto em modelos animais (McMullan et al., 2016; Vogel et al., 2009; Warburton et al., 2006; Belviranli e Okudan, 2018). Os benefícios do exercício físico parecem estar amplamente atrelados a uma modulação do metabolismo energético. Por exemplo, o exercício físico

promove melhorias no perfil energético e metabólico em diversos órgãos e sistemas orgânicos, incluindo: i) aumento no fluxo metabólico lipídico (β -oxidação e lipólise), reduzindo a adiposidade; ii) melhora da sensibilidade à insulina e respostas glicêmicas; iii) melhora do fluxo sanguíneo e oxigenação cerebral. Além disso, o exercício físico gera importantes e impactantes adaptações nos sistemas cardiorrespiratório, músculo esquelético e respiratório, bem como regula diversos processos comportamentais como a cognição e a memória, o sono e o humor (Vogel et al., 2009; Warburton et al., 2006; Franco et al., 2005; Petrella et al., 2005).

1.2.1. Exercício Físico Aeróbico e o Perfil Sensório-Emocional-Cognitivo

Podemos destacar, dentre os benefícios do exercício físico, seu efeito sobre a nocicepção. As alterações na percepção da dor (ex.: sensibilidade reduzida para a dor) são eventos que ocorrem comumente em atletas durante e/ou após exercícios aeróbicos extenuantes, como por exemplo maratona e corrida de 100 metros (Cook e Koltyn, 2000; Koltyn, 2002; O'Connor e Cook, 1999; Koltyn et al., 2001). Diversos pesquisadores vêm investigando o efeito analgésico do exercício físico tanto em pessoas saudáveis quanto em pessoas com alguma dor crônica (Koltyn, 2000; Sluka et al., 2013; Lemley et al., 2014; Naugle et al., 2012; Naugle et al., 2013; Naugle et al., 2016, Naugle et al., 2014). No entanto, não existe um consenso sobre modalidade e intensidade de exercício para induzir esse efeito (Furuta et al., 2003; Onodera et al., 2001; Nakagawasai et al., 1999; Sakurada et al., 1999). Os mecanismos biológicos envolvidos no efeito do exercício físico na percepção e resposta a dor também não estão totalmente esclarecidos, porém, a modulação dos sistemas opioidérgico e serotoninérgico têm sido amplamente implicados nos efeitos benéficos do exercício físico na nocicepção (Bobinski et al., 2015; Sluka et al., 2013; Koltyn, 2000).

Estudos desde a década de 80 relatam que os efeitos analgésicos dependem da intensidade do exercício, sendo as práticas de intensidade moderada à vigorosa proporcionando aumento nos níveis séricos de beta-endorfinas e encefalinas, e as práticas de baixa intensidade não alterando os níveis de tais opioides (Farrel et al., 1982, 1987; Goldfarb et al., 1987, 1991; Sforzo, 1989; Oleshansky et al., 1990; Elliot et al., 1984; Donevan e Andrew, 1987). Entretanto, Bobinski e colaboradores (2011) demonstraram que um programa de exercício aeróbico de baixa intensidade em esteira ergométrica, por um período de duas semanas – com intensidade de 10 m/min

e duração de 30 min – sendo o exercício realizado antes ou após a lesão nervosa, ou ambos – foi capaz de promover a redução da hiperalgesia (dor) causada pela lesão por esmagamento no nervo isquiático em camundongos, um modelo animal de dor crônica do tipo neuropática. Adicionalmente, Bobinski e colaboradores (2015) demonstraram que o efeito analgésico (antinociceptivo) do exercício físico aeróbico de baixa intensidade realizado após a lesão do nervo isquiático foi associado ao aumento da neurotransmissão serotoninérgica. Os autores observaram que nos animais exercitados, o aumento no limiar de sensibilidade mecânica da pata ipsilateral à lesão estava relacionada ao aumento da expressão – no tronco encefálico – dos receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT1B, 5-HT2A e 5-HT2C, bem como da redução da expressão do transportador da serotonina, conduzindo os efeitos analgésicos do exercício físico. Outro estudo de Bobinski revelou também que tanto os animais submetidos à lesão nervosa quanto os falso-operados apresentaram aumento na concentração de serotonina (ou 5-hidroxitriptamina – 5-HT), no tronco encefálico, após o programa de duas semanas de exercício físico aeróbico de baixa intensidade (Bobinski et al., 2015).

Pesquisas envolvendo tanto humanos, quanto modelos animais, demonstraram que protocolos crônicos de exercício físico nas mais variadas intensidades, bem como modalidades, apresentam resultados positivos na recuperação de alguns tipos de traumas e lesões ortopédicas/neurológicas, doenças infecto-contagiosas (como resfriados e gripes), doenças auto-imunes, doenças respiratórias, imunossupressão viral (do inglês *human immunodeficiency virus* - HIV), doenças metabólicas/vasculares e doenças neurodegenerativas, além de melhorar a função cognitiva, memória e o humor (Liu et al., 2009; Iversen et al., 2018; Bobinski et al., 2015; Dugan, Jergova and Sagen, 2020; Sellami et al., 2018; Keramiotou et al., 2020; Castillo et al., 2020; Jagers, 2018; Korsager e Matchkov, 2020; Daghigh et al., 2020; Ignácio et al., 2019; Cassilhas et al., 2016; Morris et al., 2017; Cui et al., 2018; Li et al., 2019; Lee et al., 2014).

No presente estudo, nós investigamos também a resposta comportamental de animais exercitados frente à diversos estímulos desafiadores e estressantes. Neste sentido, podemos salientar a importância da capacidade de resiliência frente aos estímulos estressantes no contexto de qualidade de vida e bem-estar (Russo et al., 2012; Charney, 2004; Feder, Nestler e Charney, 2009; Herman e Cullinan, 1997). Sabendo que a ativação do eixo HPA é uma das respostas fisiológicas adaptativas

geradas pelo exercício físico, o exercício físico crônico e regular parece induzir uma regulação por feedback negativo do eixo HPA e assim auxilia na resposta ao estresse físico e psicológico (Klaperski et al., 2013; Duclos e Tabarin, 2016; Droste et al., 2003). A ativação do eixo HPA pelo exercício físico estimula a liberação e integração de sinais neuronais, circulatórios/hormonais e inflamatórios que participam da modulação dos níveis de monoaminas, endorfinas, hormônios, neurotransmissores, fatores de crescimento e neurotrofinas. Através desta alteração nos padrões bioquímicos e fisiológicos, processos cognitivos, emocionais e de resiliência são também modulados, aumentando inclusive a sensação de bem-estar dos indivíduos (Archer, Josefsson e Lindwall, 2014; Shafia et al., 2017; Heijnen et al., 2016; Sampedro-Piquero e Moreno-Fernández, 2021).

Destaca-se, também, que o exercício físico aeróbico, tanto em humanos quanto em animais, estimula a neurogênese hipocampal adulta, contribuindo para o aumento do volume hipocampal e aos processos de aprendizagem e memória (Figueiredo et al., 2010; Micheli e Tirone, 2018; Voss et al., 2013). Van Praag, Kempermann e Gage (1999) foram os pioneiros a demonstrar o efeito da atividade física em roda de corrida sobre a neurogênese hipocampal de camundongos machos. Os autores identificaram que a atividade física na roda de corrida foi a responsável pela proliferação destes novos neurônios no hipocampo adulto dos animais. Em 2014, Kondo e colaboradores submetem camundongos machos, de 9 semanas de idade, a 3 semanas de atividade física em rodas de corrida, identificando que a atividade física aeróbica aumentou a proliferação neuronal comparado ao grupo controle, bem como reduziu o tempo de imobilidade nos testes de nado forçado e suspensão pela cauda, indicando que a atividade física aeróbica gera resiliência nos animais. Além disso, diversas evidências mostram que o exercício físico aumenta a expressão gênica de neurotrofinas e os níveis de neurotransmissores, bem como reduz o dano oxidativo no hipocampo, estriado e outras regiões corticais. Essas adaptações neurobiológicas conferem efeito neuroprotetor, melhorando o aprendizado e a resiliência, bem como reduzindo o comportamento ansioso (Kohut, Boehm, Moynihan, 2001; Radak et al., 2001, 2006; Cotman et al., 2007; Martin et al., 2013; Gibbons et al., 2014; Zoladz et al., 2014; Vaynman et al., 2004; Huang et al., 2006; Khabour et al., 2009; Mul et al., 2018).

Ainda, é bem documentado na literatura que a neurogênese hipocampal pode ser impactada por afecções sensoriais como a dor crônica do tipo neuropática,

prejudicando funções cognitivas como o aprendizado e a memória (Apkarian et al., 2016; Xia et al., 2020; Du et al., 2021; Jiang et al., 2019). No entanto, o efeito do exercício físico sobre a relação entre a neurogênese hipocampal adulta e as respostas sensoriais em modelos experimentais de animais alojados em condições laboratoriais não está completamente elucidado. Visto que a maioria dos estudos acerca dos efeitos do exercício físico abordam estes temas separadamente, uma compreensão integrada dos efeitos do exercício físico na nocicepção e sua interconexão com os processos de aprendizado e de neurogênese hipocampal adulta se torna extremamente necessário tanto em estudos clínicos quanto pré-clínicos (Micheli et al., 2018; Morgan et al., 2018; Trejo, Llorens-Martín e Torres-Alemán, 2008).

1.2.2. O Papel do Dimorfismo Sexual nos Efeitos do Exercício Físico Aeróbico

Estudos científicos apontam que o sexo é o principal fator determinante nas diferenças de desempenho esportivo em atletas, como resultado de diferenças nos padrões fisiológicos que impactam na altura, composição corporal, e capacidade aeróbia (Haizlip, Harrison e Leinwand, 2014; Thibault et al., 2010; Brager et al., 2017; Rezende et al., 2006). Digno de nota, existe uma grande diferença na composição da fibra muscular esquelética entre homens e mulheres associada a diferenças nos padrões genéticos, distinções nos níveis dos hormônios tireoidianos, estrogênio e testosterona; bem como respostas adaptativas distintas ao treinamento físico (Haizlip, Harrison e Leinwand, 2014; Thibault et al., 2010; Brager et al., 2017; Rezende et al., 2006; Abreu, Leal-Cardoso e Ceccatto, 2017). As diferenças estruturais, morfológicas e genéticas nos padrões das fibras musculares sugerem que homens apresentam maior capacidade de manter a força contrátil do músculo esquelético e menor fadigabilidade, quando comparados a mulheres (Haizlip, Harrison e Leinwand, 2014; Abreu, Leal-Cardoso e Ceccatto, 2017; Thibault et al., 2010).

Digno de nota, embora a participação de mulheres nos esportes e competições tenha aumentado significativamente nos últimos anos, existe uma forte exclusão de mulheres em pesquisas científicas e, conseqüentemente, pouco se sabe sobre os aspectos fisiológicos atrelados a mulheres que possam impactar diretamente no desempenho esportivo (Bruinvels et al., 2016). De fato, ao longo dos anos, diversos pesquisadores se apoiaram em percepções sobre a variação natural causada pelo ciclo hormonal, excluindo massivamente mulheres e animais fêmeas de pesquisas

científicas envolvendo o exercício físico (Shansky, 2019). Além disso, embora evidências científicas apontam que as mulheres acreditam que algumas fases do ciclo menstrual possam ter um impacto negativo sobre o desempenho esportivo delas, a literatura científica carece de uma abordagem em nível clínico e/ou pré-clínico que reportem os efeitos do exercício físico em mulheres (ou animais fêmeas) para assim podermos compreender em maior profundidade os aspectos da fisiologia do exercício voltada tanto para o treinamento, quanto para a saúde de mulheres (Bruinvels et al., 2016). Assim sendo, torna-se evidente e fundamental a compreensão da importância do dimorfismo sexual tanto no desempenho esportivo, quanto nos efeitos do exercício físico sobre a saúde humana.

Neste sentido, embora os efeitos analgésicos do exercício físico fiquem bem evidentes tanto em estudos clínicos, quanto pré-clínicos, Pitcher (2018) fez uma revisão sistemática acerca das pesquisas em modelos animais de dor que utilizaram exercício físico como uma ferramenta no manejo da dor (roda de corrida e esteira rolante) e evidenciou que, dos 40 estudos identificados, apenas 10 utilizaram fêmeas em seus respectivos trabalhos. Nesse sentido, a literatura ainda necessita de mais evidências científicas do efeito analgésico do exercício físico em mulheres e em animais fêmeas, bem como de um amplo estudo do papel do dimorfismo sexual em tais efeitos. Além disso, existe um número muito pequeno de estudos que apontam as diferenças sexuais no efeito do exercício físico sobre a memória. Uma revisão conduzida por Yagi e Galea (2019) abordou as diferenças sexuais sobre a neurogênese hipocampal e cognição, identificando que as pesquisas encontradas avaliaram machos e fêmeas separadamente, sugerindo também, ampliar a compreensão sobre o melhor protocolo de exercício físico para beneficiar a função cognitiva de homens e mulheres.

Na presente tese de doutorado, nós investigamos os efeitos *per se* do exercício físico aeróbico – previamente descrito por Bobinski (2011) – sobre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos mantidos em condições laboratoriais e submetidos a diferentes testes comportamentais, avaliando possíveis diferenças entre machos e fêmeas.

2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

A literatura científica é robusta quanto aos efeitos do exercício físico aeróbico na memória e aprendizagem, redução da ansiedade e manejo da dor. No entanto, ainda existe a necessidade de evidências científicas em relação à investigação do efeito do exercício físico aeróbico sobre o perfil sensorio-emocional-cognitivo de forma integrada, inclusive, explorando o papel do dimorfismo sexual. Tendo em vista as distinções nas respostas comportamentais frente aos estímulos sensoriais, estressantes e cognitivos entre os sexos, a presente tese investigou se o protocolo de exercício físico aeróbico proposto neste trabalho teria efeitos sobre as respostas comportamentais de camundongos machos e fêmeas diante de desafios estressores. Dessa maneira, pretendemos compreender o papel do dimorfismo sexual no perfil sensorio-emocional-cognitivo de camundongos e os efeitos do protocolo de exercício físico aeróbico sobre esse perfil.

A hipótese científica investigada na presente tese de doutorado é que o exercício físico aeróbico em esteira pode exercer efeitos neurocomportamentais em camundongos machos e fêmeas, como: diminuição das respostas de medo e aumento do comportamento de enfrentamento (resiliência) diante de situações estressantes, melhora em tarefas cognitivas e de aprendizagem e menor percepção aos estímulos sensoriais não-nocivos, como os testes de sensibilidade mecânica e térmica.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL: Avaliar os efeitos do exercício físico aeróbico sobre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos adultos machos e fêmeas em condições laboratoriais

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Investigar o papel do dimorfismo sexual no peso corporal e consumo alimentar dos camundongos exercitados e controles;
- Observar as respostas comportamentais e sensoriais de camundongos machos e fêmeas exercitados e controles submetidos à testes de avaliação sensorial e comportamental;
- Avaliar a ingestão alimentar e ganho de peso corporal dos camundongos machos e fêmeas exercitados e controles;
- Quantificar a locomoção espontânea, por meio do número de cruzamentos no teste de campo aberto, em camundongos machos e fêmeas, exercitados e controles;
- Mensurar o efeito do protocolo de exercício físico aeróbico no limiar de sensibilidade, através de testes somestésicos mecânico (teste de von Frey) e térmico (teste de sensibilidade ao frio pela exposição à acetona), em camundongos machos e fêmeas;
- Examinar as respostas comportamentais de enfrentamento ao estresse em animais machos e fêmeas, por meio dos testes comportamentais do campo aberto, suspensão pela cauda e labirinto em cruz levado;
- Avaliar os efeitos do protocolo de exercício físico aeróbico sobre a aprendizagem dos animais, através dos testes de reconhecimento de objetos e teste da esquiva inibitória da descida do tipo *step down*.

Para facilitar a compreensão das etapas da pesquisa, os experimentos foram realizados em 3 coortes diferentes (conforme figuras 2, 3 e 4), garantindo que cada grupo de animais realizasse o menor número de testes comportamentais possível. Os testes comportamentais foram repetidos em diferentes estações climáticas (verão e outono) a fim de evitar viés climático e garantir a replicabilidade dos resultados.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

O presente estudo caracteriza-se como uma pesquisa quantitativa, experimental e randomizada, sendo o protocolo experimental aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA (protocolo 1461210519). Seguimos os princípios de Russell-Burch (1959) de “redução, substituição e refinamento” no uso de animais, conhecido como Princípio dos 3R’s. Para isso foram utilizados um total de 120 camundongos machos e 120 camundongos fêmeas da linhagem *Swiss* (2-3 meses de idade) obtidos do Biotério Central da UFSC, Universidade Federal de Santa Catarina, os quais foram mantidos no biotério setorial do Laboratório de neurobiologia da dor e inflamação (LANDI), com temperatura controlada $22\pm 1^{\circ}\text{C}$, ciclo claro/escuro de 12 horas (liga 7h) e alimentação/água *ad libitum*.

Para o protocolo experimental, os animais foram divididos por randomização em quatro grupos experimentais:

- Grupo 1: Machos Controles (n=60),
- Grupo 2: Fêmeas Controles (n=60),
- Grupo 3: Machos Exercitados (n=60),
- Grupo 4: Fêmeas Exercitadas (n=60).

Os animais foram agrupados por sexo e mantidos em grupos de 10 animais por gaiola de polipropileno (41x34x17cm), no biotério setorial do LANDI, conforme o grupo experimental durante todo o protocolo. O alojamento dos animais pode ser visualizado na figura 1.



Figura 1. Alojamento dos animais no Biotério Setorial – LANDI: Espaço físico do biotério setorial do LANDI, situado no departamento de Ciências Fisiológicas da UFSC, no qual as caixas de alojamento dos camundongos permaneceram durante todo o protocolo experimental. As caixas de alojamento dos camundongos foram higienizadas com água e sabão neutro duas vezes por semana.

4.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O peso corporal de cada camundongo foi verificado em balança analítica portátil (BestFer – SF 400) a fim de acompanhar possíveis alterações dos pesos corporais no decorrer da execução do protocolo experimental. A ingesta de ração também foi mensurada semanalmente. Antes de iniciar o protocolo de exercício físico, os animais dos grupos exercitados (machos e fêmeas) foram submetidos ao teste de esforço incremental em esteira, a fim de demonstrar que o desempenho dos camundongos na velocidade estabelecida para o protocolo experimental foi semelhante entre os sexos, conforme descrito no item 4.3.1. Após 48h de repouso, os animais foram ambientados na esteira (Athletic Advanced 2, Joinville, SC, Brasil) nas velocidades de 0 m/min ou 10 m/minuto, conforme o grupo experimental: controle ou exercitado, respectivamente, por seis dias consecutivos durante cinco minutos/dia. Posteriormente, os animais dos grupos exercitados iniciaram o protocolo experimental de exercício físico. O protocolo de exercício físico aeróbico consistiu na exposição dos animais a esteira rolante de corrida (10 m/min) por 30 min/dia, cinco dias por semana, por duas semanas totais. Os animais do grupo controle permaneceram 30 min/dia sobre a esteira rolante de corrida parada (0 m/min), durante o mesmo período, a fim de evitar qualquer viés experimental relacionado a manipulação dos animais. Vinte e quatro horas depois de findado o protocolo de exercício, todos os animais foram

submetidos a testes comportamentais durante três dias consecutivos, conforme esquematizado na figura 2.

4.3. TESTES COMPORTAMENTAIS

Em todos os testes comportamentais, os animais foram habituados na sala de realização dos testes durante 1 hora antes de iniciar os testes comportamentais, os quais foram realizados durante a fase clara do ciclo (9h -17h).

4.3.1. Teste De Esforço Incremental Em Esteira Rolante:

Após a inclusão randômica dos animais nos grupos experimentais, os camundongos machos e fêmeas dos grupos exercitados foram submetidos ao teste incremental em esteira rolante elétrica antes de iniciar o protocolo experimental de exercício físico. A velocidade da esteira rolante no teste iniciou em 16m/min e foi aumentado 3m/min a cada 3 minutos até a exaustão individual de cada animal. A exaustão do animal neste teste incremental foi identificada quando o animal permanecia encostado na parede posterior da baia, mesmo após 3 delicados incentivos manuais. Diante da exaustão do camundongo, ele era, então, retirado da esteira e o tempo total de corrida do animal no teste registrado. Digno de nota, a esteira permaneceu com 0% de inclinação durante todo o período de teste (Ferreira et al., 2007). Esse teste possibilitou identificar a velocidade máxima de cada animal e, assim, demonstrar possíveis diferenças no desempenho entre os sexos no exercício físico em esteira rolante. Assim, garantimos que o protocolo de exercício físico aeróbico empregado no presente trabalho fosse desempenhado na mesma intensidade e volume entre os animais de diferentes sexos.

4.3.2. Avaliação do Consumo de Ração e Peso Corporal

O peso corporal dos animais e o consumo de ração foram avaliados semanalmente, de preferência, entre às 9 e 12h.

- **Peso corporal:**

O peso corporal foi monitorado semanalmente durante todo o protocolo de exercício físico através de uma balança analítica já descrita anteriormente. A pesagem dos animais foi realizada na sala onde os mesmos foram submetidos ao protocolo experimental de exercício físico aeróbico. Esta pesagem ocorreu antes do início das atividades na esteira.

- **Consumo de ração:**

A ingestão de alimentos foi mensurada semanalmente durante todo o protocolo de exercício físico. O cálculo do consumo de ração consistiu na diferença do peso da ração colocada na grade da gaiola e o peso da ração mensurada periodicamente. Como os animais estão alojados em grupos de 10, o valor mensurado foi normalizado pelo peso corporal de cada animal.

4.3.3. Protocolo de Exercício Aeróbico em Esteira:

O nosso grupo de pesquisa tem avaliado e comprovado o efeito analgésico do protocolo de exercício físico aeróbico por 2 semanas em alguns modelos experimentais de dor (Bobinski et al., 2011; 2015). Este modelo de exercício físico consistiu em ambientar os animais na esteira durante seis dias antes do início do protocolo de exercício, 5 minutos por dia, a uma velocidade de 10 m/min, a fim de minimizar o estresse causado pelo ambiente diferente. O programa de exercício físico em camundongos foi realizado no Laboratório de Neurobiologia da Dor e Inflamação (LANDI, UFSC) e executado com uma esteira ergométrica (Advanced 2, Athletic, Joinville, SC, Brasil) adaptada para camundongos contendo 12 raias individuais (25 x 10 x 9,5 cm) de acrílico. O protocolo experimental de exercício físico em camundongos consistiu em corrida na esteira rolante durante 30 min por dia a uma velocidade de 10 m/min, sem inclinação, cinco dias por semana, por duas semanas (Mess et al., 2019). Os animais dos grupos não exercitados (controles) foram apenas manipulados e colocados na esteira parada, pelo mesmo tempo, a fim de serem submetidos aos mesmos procedimentos operacionais. Digno de nota, estudos prévios de nosso laboratório de pesquisa demonstram que este modelo experimental não gerou alterações nos níveis de lactato sanguíneo (o programa de exercício físico empregou cerca de 75% de carga da máxima fase estável do lactato), o que se subentende de

um modelo experimental de exercício físico de baixa intensidade (Bobinski et al., 2011). Dando continuidade a este trabalho, nós empregamos o mesmo protocolo experimental com o intuito de verificar os efeitos do exercício físico aeróbico sobre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos adultos machos e fêmeas em condições laboratoriais.

4.3.4. Teste de von Frey – *Up & Down*:

O limiar basal de dor mecânica foi avaliado utilizando monofilamentos de von Frey a partir de gramaturas entre 0,02 e 8 gramas (VFH, Stoelting, Chicago, IL, EUA). Foi observada a resposta de retirada da pata estimulada, frente a um estímulo mecânico como descrito previamente por Bobinski et al. (2011b). Os animais foram colocados individualmente em uma caixa de acrílico (9 x 7 x 11 cm) sem fundo, posicionada sobre uma plataforma com malha de arame, para permitir o acesso à superfície plantar da pata dos animais aos monofilamentos. O teste consistiu na aplicação do filamento de von Frey (durante 5 segundos) na pata posterior direita, atendendo alguns critérios: i) a aplicação foi feita perpendicularmente à superfície plantar; ii) a pressão foi suficiente para proporcionar a curvatura do filamento, obtendo-se assim pressão total; iii) os animais foram avaliados quando as quatro patas estavam acomodadas sobre a tela de apoio e iv) a resposta de retirada da pata foi considerada positiva quando o animal removeu totalmente a pata da tela de apoio. O resultado deste teste foi expresso em média de acordo com as gramaturas dos filamentos aplicados.

4.3.5. Teste de Sensibilidade Térmica ao Frio:

A avaliação da hiperalgesia térmica ao frio foi avaliada conforme o método descrito por Flatters e Bennett (2004), com pequenas modificações. Os animais foram aclimatados em caixas acrílicas individuais (9x9x8 cm) em uma plataforma elevada de assoalho aramado, permitindo acesso à superfície ventral das patas, e 50 µL de acetona foi sutilmente aplicado na superfície ventral da pata posterior direita. A resposta comportamental foi avaliada durante 20 segundos e registrada em escores: 0 – nenhuma resposta; 1 – rápida retirada ou movimento brusco da pata; 2 – retirada prolongada ou agitação repetida da pata; 3 – agitação repetida seguida de lambida da

pata; 4 – Vocalização. A aplicação de acetona foi repetida três vezes, em intervalos de cinco minutos, e a soma dos escores foram utilizadas para as análises estatísticas (Cordova et al., 2011).

4.3.6. Teste de Campo Aberto:

O teste de campo aberto foi usado para avaliar as atividades locomotoras e exploratórias dos animais, sendo que a tendência natural do camundongo em um novo ambiente é explorá-lo (Prut e Belzung, 2003). O teste foi realizado individualmente com cada animal por 10 minutos de livre exploração em uma arena quadrada de 50 cm largura x 50 cm profundidade x 40 cm de altura. O teste foi gravado em vídeo por uma câmera posicionada 1,00 m de distância acima da área de observação. O experimento foi analisado manualmente, para os seguintes parâmetros: número total de cruzamentos, tempo total de permanência no centro e na periferia (%) do aparato.

4.3.7. Teste de Suspensão Pela Cauda:

Descrito por Steru e colaboradores, em 1985, o teste de suspensão pela cauda possibilita a determinação do comportamento dos animais para reagir a uma situação de estresse agudo e inescapável. O teste de suspensão pela cauda é um teste muito utilizado para analisar a atividade tipo-antidepressiva e resiliência de camundongos (Leone et al., 2014; Mul et al., 2018; Cryan, Mombereau e Vassout, 2005), em que os animais são presos verticalmente pelo terço final da cauda com uma fita adesiva em um anteparo colocado à uma distância do chão e o comportamento de enfrentamento ao estado de desespero comportamental inescapável é analisado. Nesse sentido, o comportamento de mobilidade/resiliência (tentativa de escape; resposta ativa) ou imobilidade (resposta passiva de enfrentamento) dos animais é mensurado como um indicativo de atividade antidepressiva\depressiva e resiliência. No presente estudo, os camundongos foram visualmente e acusticamente isolados, suspensos verticalmente pelo terço da cauda preso por uma fita adesiva à 50 cm do chão, e o tempo de imobilidade e a latência para o primeiro episódio imóvel foi registrado em um período de 5 minutos.

4.3.8. Labirinto em Cruz Elevado:

O teste do labirinto em cruz elevado se baseia na exposição dos animais em um aparato comportamental contendo dois braços abertos e dois braços fechados. Esse teste oferece um paradigma comportamental entre a exploração de ambientes escuros e fechados e a aversão de ambientes abertos/elevados por parte de roedores. Este é um conflito psicológico importante para compreender a cognição e a emoção dos animais (Pawlak et al., 2021; Rodgers e Dalvi, 1997). Esse teste é reconhecido pela avaliação do comportamento tipo-ansioso (menor exploração dos braços abertos) e ansiolítico (maior exploração dos braços abertos) em roedores (Walf e Frye, 2007). Nesse teste avaliamos o tempo de permanência dos animais nos braços abertos e nos braços fechados (tempo em %) e avaliamos o tempo total da avaliação de risco (quando mergulham a cabeça para baixo do braço aberto e esticam o corpo para frente) que é um comportamento indicativo de ansiedade em roedores (Komada, Takao e Miyakawa, 2008; Kraeuter, Guest e Sarnyai, 2019; Lamprea et al., 2000). O aparato consistiu em uma plataforma central (6 × 6 cm), com dois braços abertos (30 × 6 cm) alinhados perpendicularmente a dois braços fechados (30 × 6 × 17 cm) e elevados à 50 cm acima do chão. Os camundongos foram colocados na plataforma central de frente para um braço fechado e exploraram o labirinto por 5 minutos. Os vídeos foram analisados visualmente por um avaliador “cego” para as condições experimentais empregadas.

4.3.9. Teste de Reconhecimento de Objetos

Esse teste comportamental é utilizado para acessar a memória de reconhecimento em roedores, baseando-se na tendência natural do animal em explorar mais o objeto novo em detrimento do objeto familiar, em um contexto conhecido. Sendo assim, cada animal foi ambientando individualmente durante 10 minutos numa arena quadrada de 50x50x40 cm, a fim de se familiarizar com o aparato, voltando para suas caixas de alojamento em seguida. Após 24 horas, cada animal foi colocado novamente no aparato, agora contendo dois objetos idênticos posicionados em seu interior. Essa fase do protocolo experimental foi denominada de treino e consistiu em livre exploração dos dois objetos pelo animal por um período de 5 minutos. Após o treino os animais foram relocados às suas caixas-moradia. No terceiro dia, os animais foram novamente expostos à arena, agora contendo um objeto

familiar e um objeto novo (não-familiar) no interior da arena. Essa terceira exposição dos animais à arena foi denominada de teste. No teste cada animal teve 5 minutos para livre exploração dos objetos. Digno de nota, a cada troca de animal, a arena foi limpa com álcool 70%. O teste foi gravado e o comportamento exploratório dos animais (cheirar, tocar ou roer o objeto) analisado. O cálculo utilizado para identificar o índice discriminatório foi $(T_{\text{novo}} - T_{\text{familiar}}) / (T_{\text{novo}} + T_{\text{familiar}})$, cujo T_{novo} é o tempo gasto explorando o objeto não-familiar e T_{familiar} é o tempo gasto explorando o objeto familiar. O índice de discriminação varia de -1 a 1, sendo a pontuação zero o correspondente à indiferença entre objeto novo e familiar – valores negativos indicam maior preferência pelo objeto familiar e valores positivos indicam maior preferência pelo objeto novo.

4.3.10. Teste de Esquiva Inibitória de Descida do Tipo Step Down

Nesse teste, cada animal foi colocado delicadamente e individualmente em uma plataforma acrílica (10×10×2 cm) posicionada à esquerda da caixa de contexto. A caixa de contexto consistiu em um aparato feito em alumínio (50x 25 x 25 cm), com a parede frontal e teto de acrílico e piso gradeado (com barras metálicas de 0,1 cm de diâmetro, afastadas 1 cm uma das outras). Um gerador de choques estava conectado ao piso gradeado, permitindo a aplicação de choques elétricos, conforme o protocolo experimental. Tanto a sessão de treinamento, quanto a sessão teste, apresentaram o tempo máximo de 180 segundos de livre exploração do aparato pelos animais. Na fase de treino quando os animais desceram da plataforma de acrílico na grade elétrica com as 4 patas, o experimentador acionou manualmente um botão que disparou o choque elétrico de 0,5 mA durante 3 segundos nas patas de cada animal. Após o choque nas patas dos animais, o examinador retirou o animal do aparato. Este evento aversivo é considerado uma tarefa de aprendizagem, uma vez que os animais associam a descida na grade ao choque nas patas, possibilitando a formação da memória contextual associativa aversiva. Para avaliar a aprendizagem, decorridos 24h, 7, 14, 21 e 28 dias da sessão de treino, os animais foram colocados novamente na plataforma, e a latência para a descida com as 4 patas na grade elétrica foi avaliada. Assim que o animal desceu na grade com as 4 patas, foi retirado do aparato pelo examinador. A retenção de memória foi medida pela latência em descer à grade durante as sessões de teste em comparação com a sessão de treinamento.

4.4. DESENHO EXPERIMENTAL

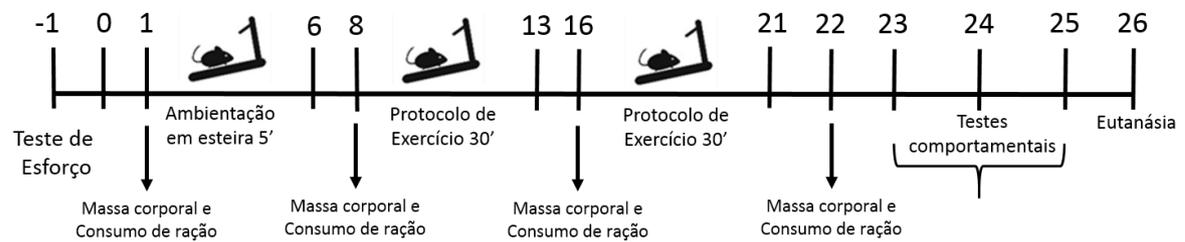


Figura 2 Esquema representativo do desenho experimental – padrão com o respectivo protocolo de exercício físico e as análises realizadas. Antes de iniciar qualquer análise, os animais do grupo exercitado foram submetidos ao teste de esforço incremental. Todos os animais foram monitorados quanto ao consumo de ração e peso corporal desde uma semana antes de iniciar a ambientação na esteira. Os testes basais para somestesia (von Frey e Sensibilidade ao frio) também foram realizados antes de iniciar o protocolo com os grupos exercitados e controles. Os animais foram ambientados na esteira por 6 dias e submetidos ao protocolo experimental de exercício físico por 2 semanas. Nos dias 23-25 os animais foram submetidos a distintos testes comportamentais.

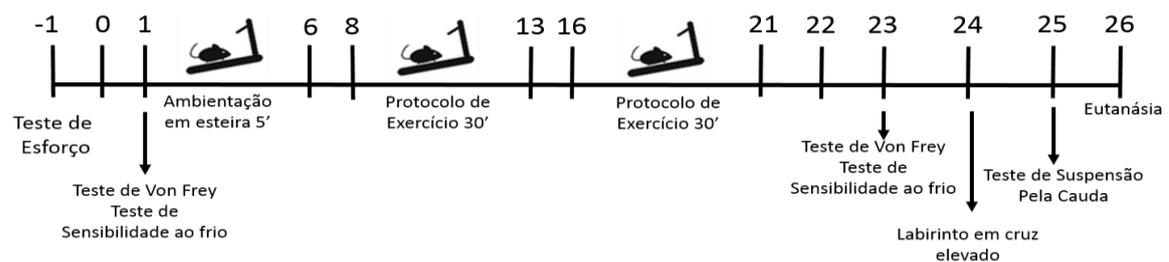


Figura 3 Esquema representativo do Desenho Experimental referente ao 1º Coorte de animais utilizados com o respectivo protocolo de exercício físico e os testes comportamentais analisados: Todos os animais realizaram os testes somestésicos antes de iniciar a habituação na esteira. Em seguida, realizaram 6 dias de habituação na esteira por 5 minutos – os grupos exercício com a esteira na velocidade constante de 10m/min e os controles com a esteira desligada. Após, os animais iniciaram o protocolo de exercício físico na velocidade de 10 m/min (ou esteira desligada para grupos controles), 5 dias da semana por 2 semanas. E, finalmente, findado o protocolo de exercício físico, todos os animais foram submetidos novamente aos testes somestésicos (dia 23), teste do labirinto em cruz elevado (dia 24) e teste de suspensão pela cauda (dia 25) (n=20 por grupo).

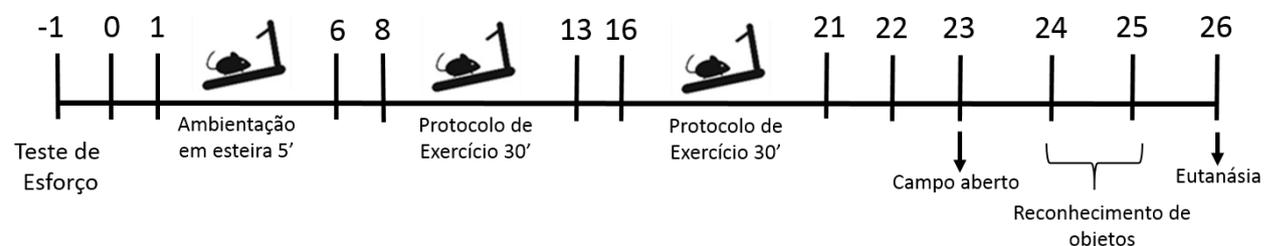


Figura 4 Esquema representativo do Desenho Experimental referente ao 2º Coorte de animais utilizados com o respectivo protocolo de exercício físico e os testes comportamentais analisados: Todos os animais realizaram o mesmo processo de habituação e protocolo de exercício físico em esteira (ou esteira desligada) conforme o 1º Coorte. E, finalmente, findado o protocolo de exercício físico, todos os animais foram submetidos aos testes comportamentais de campo aberto (dia 23), e teste de reconhecimento de objetos (dia 24-25) (n=20 por grupo).

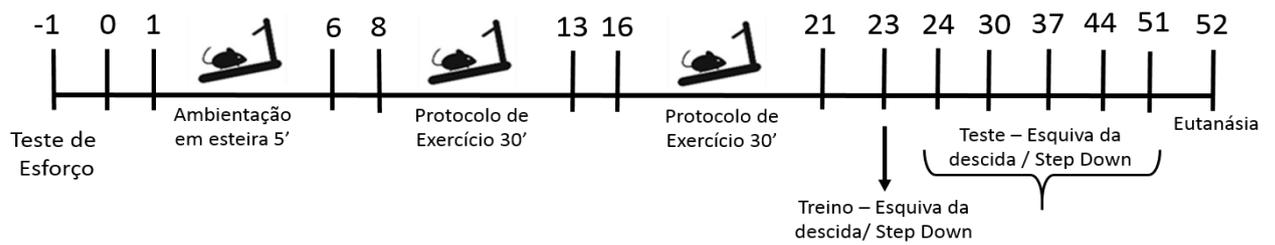


Figura 5 Esquema representativo do Desenho Experimental referente ao 3º Coorte de animais utilizados com o respectivo protocolo de exercício físico e os testes comportamentais analisados: Todos os animais realizaram o mesmo processo de habituação e protocolo de exercício em esteira (ou esteira desligada) conforme o 1º Coorte. E, finalmente, findado o protocolo de exercício físico, todos os animais foram submetidos ao teste comportamental de esquiva inibitória da descida do tipo step down ($n=20$ por grupo).

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram avaliados quanto à normalidade dos dados, descritos como média \pm erro padrão da média (EPM) quando análises paramétricas e como mediana com interquartil quando análises não-paramétricas. Inferências diferenças estatísticas foram analisadas através de teste T de Student, análise da variância (ANOVA) de uma ou duas vias ou para medidas repetidas, seguidos do teste de post-hoc de Tukey (dados paramétricos) ou Sidak (dados não paramétricos). A diferença foi considerada significativa quando $P < 0,05$. Para a análise de correlação entre as variáveis analisadas, os dados passaram por análise de regressão linear seguida por análise do coeficiente de Pearson. Para a avaliação da força de correlação, o “r” foi identificado como fator de correlação fraco ($\pm 0,3 - \pm 0,5$), moderado ($\pm 0,6 - \pm 0,7$), muito forte ($\pm 0,8 - \pm 0,9$) e perfeito (± 1), conforme a Tabela 1 descrita abaixo e adaptada de Akoglu (2018).

Interpretação do Coeficiente de Correlação de Pearson e Spearman		
Coeficiente de Correlação (R)		Força
(1)	(-1)	Perfeito
(+0,8) – (+0,99)	(-0,8) – (-0,99)	Forte
(+0,6) – (+0,79)	(-0,6) – (-0,79)	Moderado
(0,3) – (+0,59)	(-0,3) – (-0,59)	Fraco
(+0,1) – (+0,29)	(-0,1) – (-0,29)	Pobre
(0) – (+0,1)	(0) – (-0,1)	Nenhum

Tabela 1: Interpretação do coeficiente de correlação de Pearson e Spearman

5. RESULTADOS

5.1 OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO SOBRE A INGESTÃO ALIMENTAR E PESO CORPORAL DE ANIMAIS MACHOS E FÊMEAS

5.1.2. Teste de Esforço Incremental Demonstra Desempenho Semelhante Entre Machos e Fêmeas:

No teste de esforço incremental observa-se a fadiga dos animais expostos a esteira de corrida com acréscimos graduais e subsequentes de velocidade. Neste sentido, cada animal foi retirado do teste conforme sua exaustão individual e o tempo que o animal permaneceu no teste até sua exaustão foi registrado (Figura 6). Dessa forma, identificamos que a velocidade máxima dos animais machos variou de 40 a 73 m/min, apresentando uma média de $54,87 \pm 1,45$ m/min. Os camundongos fêmeas apresentaram uma variação de velocidade máxima de 36 a 66 m/min, com uma média de $52,15 \pm 1,85$ m/min. O Teste *T de Student*, não pareado, não demonstrou diferenças significativas nas velocidades máximas entre os sexos [$t(58) = 1,157$; $p = 0,2522$]. Concluimos, assim, que o desempenho no teste de esforço incremental em esteira foi semelhante entre camundongos machos e fêmeas, não havendo dimorfismo sexual neste parâmetro analisado. Além disso, nós asseguramos dessa maneira que o limiar de intensidade escolhido para ser empregado no protocolo de exercício físico à partir da velocidade de 10 m/min é o mesmo para ambos os sexos.

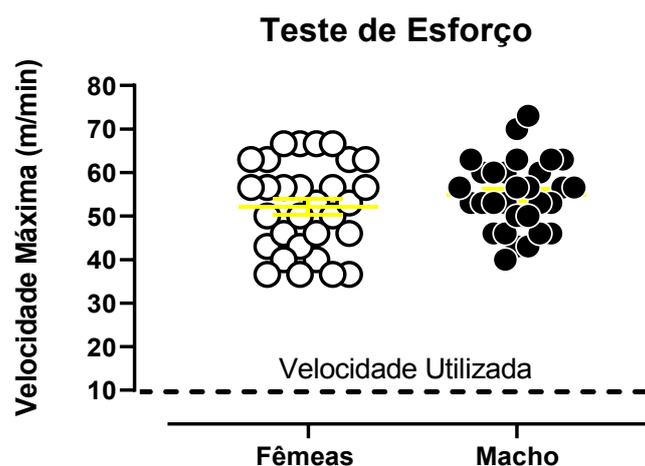


Figura 6: Avaliação da capacidade cardiorrespiratória no teste de esforço incremental em camundongos adultos machos e fêmeas submetidos ao protocolo de exercício físico aeróbico. Teste de velocidade máxima até a exaustão dos animais, realizado em esteira rolante elétrica. (N= 30 por grupo) Os dados foram analisados pelo Teste *T de Student* não pareado (Média±EPM).

5.1.3. Exercício Físico Aeróbico Previne Ganho de Peso Corporal em Camundongos Machos e Fêmeas, Aumentando A Ingestão Alimentar de Forma Diferente Entre os Sexos.

Na figura 7-A demonstramos o peso corporal dos animais empregados em nosso estudo. O peso corporal dos animais foi verificado antes de iniciar qualquer tipo de manipulação (“peso basal”), após o período de adaptação dos animais a esteira de corrida (peso obtido na semana 1), após a 1ª semana do protocolo de exercício físico (peso obtido na semana 2) e após a 2ª semana do protocolo de exercício físico (peso obtido na semana 3).

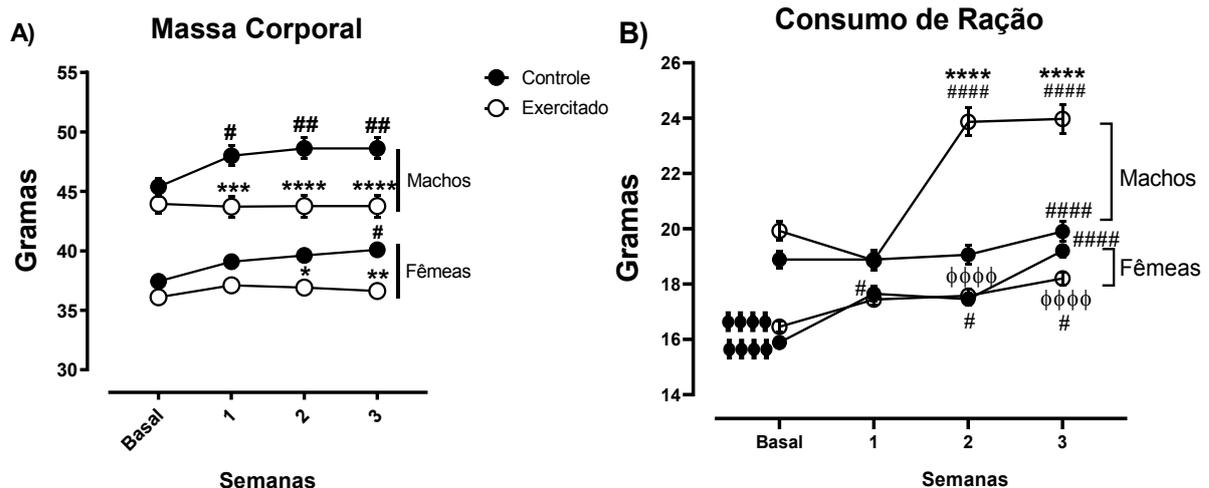
Os nossos resultados indicam que os camundongos machos (controles ou exercitados) apresentaram peso corporal maior que às fêmeas ($P < 0,0001$), tanto nas análises basais quanto nas mensurações em semanas experimentais subsequentes. Os grupos controles (machos e fêmeas) apresentaram um aumento gradativo em seus pesos corporais comparados aos respectivos pesos corporais basais, sendo que o grupo machos controles apresentou uma diferença estatística no peso corporal na 1ª semana ($P=0,04$) e na 2ª e 3ª semanas ($P=0,006$); o grupo fêmeas controles apresentou aumento no peso corporal apenas na 3ª semana ($P=0,03$). Já os grupos exercitados (machos e fêmeas) não apresentaram diferenças estatísticas no peso corporal durante todo o protocolo experimental.

Além disso, na 1ª, 2ª e 3ª semanas foi possível observar que o peso corporal do grupo macho controle era estatisticamente maior que o peso corporal do grupo macho exercitado ($P=0,0003$; $P<0,0001$; $P<0,0001$) e não teve diferenças estatísticas entre os grupos nas mensurações do peso basal. Já entre as fêmeas, na 2ª e 3ª semanas foi possível observar que o peso corporal do grupo Fêmea Controle era estatisticamente maior que o peso corporal do grupo Fêmea Exercitada ($P=0,04$ e $P=0,004$) e não teve diferenças estatísticas entre os grupos nas mensurações do peso basal. A ANOVA de duas vias para medidas repetidas revelou diferenças significativas para os fatores sexo [$F(3, 240) = 179,7$; $P < 0,05$] e exercício físico [$F(3, 80) = 6,151$, $P < 0,05$], mas não para a interação sexo x exercício físico [$F(9, 240) = 1,109$, $P > 0,05$].

Ao avaliar o consumo de ração basal (Figura 7-B), observou-se que os animais machos (controle e exercitado) ingeriram mais ração que as fêmeas (Controle $P < 0,0001$; Exercitadas $P=0,001$). Nas análises no consumo de ração obtidas nas

semanas 2 e 3, observou-se que somente os animais machos exercitados diferiam significativamente dos animais fêmeas exercitados ($P < 0,0001$).

Quando se avaliou o consumo de ração por grupo, constatou-se que o grupo machos controles ingeriu mais ração comparado ao valor basal apenas a 3ª semana ($P < 0,0001$). Já os machos exercitados aumentaram o consumo de ração nas duas semanas do protocolo de exercício aeróbico em esteira (semana 2 e 3; $P < 0,0001$). Já em relação as fêmeas, o grupo Fêmea Controle apresentou um consumo crescente desde a semana 1 de análise se estendendo até a semana 3 ($P < 0,0001$). O grupo fêmea exercitado aumentou o consumo de ração apenas na última semana do protocolo ($P < 0,01$). ANOVA de duas vias com medidas repetidas, revelou diferenças significativas para os fatores sexo [$F(3, 80) = 47,29$; $P < 0,0001$], exercício físico [$F(3, 80) = 47,29$; $P < 0,0001$]. Já na figura 7-C, apresentamos os resultados referentes à variação de peso corporal dos animais (Δg) e verificamos que o exercício físico reduziu a variação de peso corporal em camundongos machos e fêmeas. A ANOVA de duas vias revelou efeito do exercício físico [$F(1,40) = 41,25$, $P < 0,0001$], mas não para o sexo [$F(1,40) = 0,1890$; $P = 0,6661$] ou para a interação exercício físico x sexo [$F(1,40) = 1,619$; $P = 0,2105$]. Sendo assim, os grupos exercitados de ambos os sexos apresentaram menor variação do peso corporal comparado aos respectivos grupos controles (Machos exercitados: $P < 0,0001$; Fêmeas exercitadas: $P = 0,0015$).



C) Variação do Peso Corporal

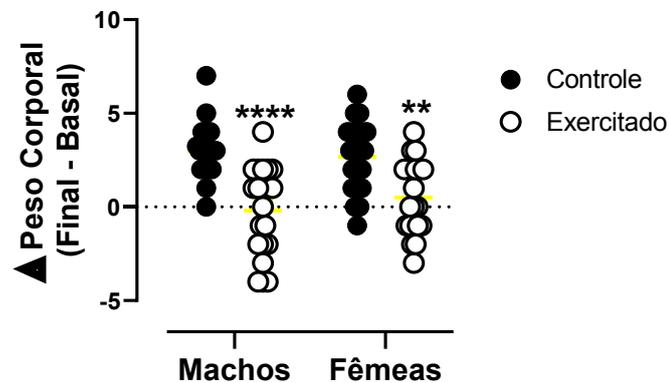


Figura 7: Acompanhamento do peso corporal e consumo de ração em camundongos adultos machos e fêmeas submetidos ao protocolo de exercício físico aeróbico. A) mensuração do peso corporal de cada grupo no decorrer de 4 semanas. B) mensuração do consumo de ração de cada grupo no decorrer de 4 semanas. Anova de duas vias para medidas repetidas (Média±EPM), seguido de post hoc Tukey. C) Efeito do exercício físico aeróbico sobre a variação de peso corporal de camundongos machos e fêmeas. Variação realizada através do cálculo (peso corporal final – peso corporal basal). ANOVA de duas vias. (N= 21 por grupo) *P<0,05; **P<0,005; ***P<0,0005. * comparação entre controle e exercício, # comparação de medidas repetidas, φ comparação entre sexos.

5.2. OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO SOBRE AS RESPOSTAS SOMESTÉSICAS DOS ANIMAIS FRENTE AOS ESTÍMULOS TÉRMICOS E MECÂNICOS

5.2.1. Exercício Físico Aeróbico é Suficiente Para Modificar o Limiar de Sensibilidade em Camundongos Machos e Fêmeas

Utilizando o teste de Von Frey – *Up & Down*, investigamos o limiar de sensibilidade mecânica (em gramas) das patas dos animais frente a um estímulo não nocivo (Figuras 8-A, B e C). A figura 8-A mostrou que os camundongos fêmeas apresentaram limiar de sensibilidade mecânica inferior ao dos machos. O teste T de Student revelou diferenças significativas no limiar mecânico basal entre machos e fêmeas [t (78) = 3,242; P =0,0017].

Na figura 8-B demonstramos o efeito do protocolo de exercício físico aeróbico sobre o limiar de sensibilidade mecânica em camundongos machos e fêmeas,

comparado aos seus respectivos grupos controles (100%). O teste T de Student revelou efeito do exercício físico aeróbico no limiar de sensibilidade mecânica nos camundongos fêmeas [$t(38) = 3,726$; $P < 0,001$], e machos [$t(38) = 2,816$; $P = 0,007$].

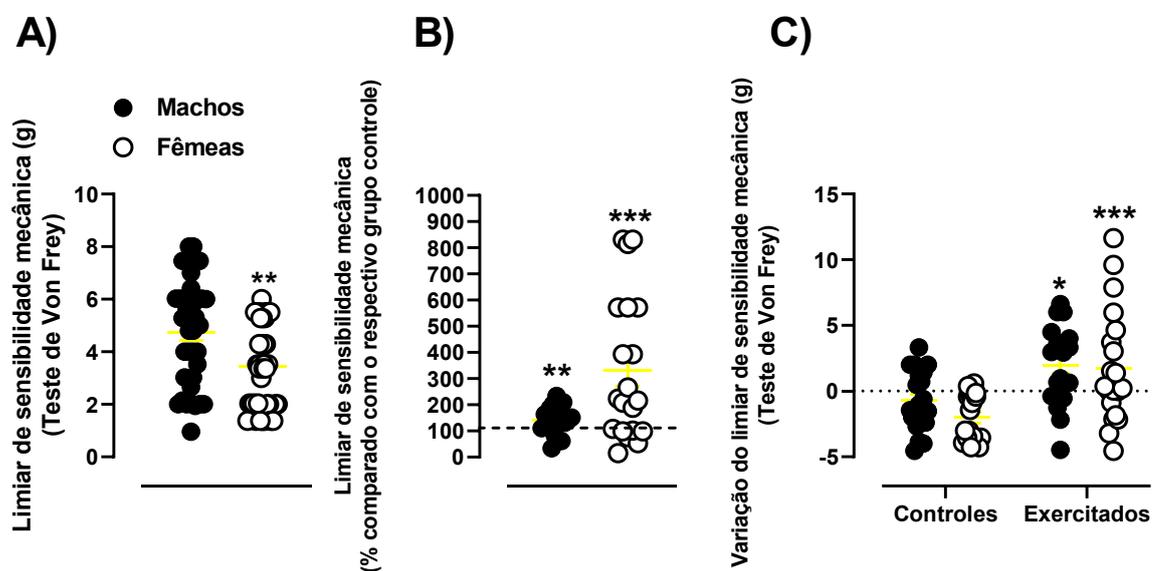
Já na figura 8-C, a variação do limiar de sensibilidade mecânica a um estímulo não nocivo (Limiar de sensibilidade mecânica ao final do protocolo experimental menos o limiar de sensibilidade mecânica basal) foi demonstrada. Os grupos controles apresentaram uma variação negativa, indicando que o limiar de sensibilidade mecânica sofreu uma redução em relação ao basal. Já os grupos exercitados apresentaram uma variação positiva do limiar de sensibilidade mecânica, indicando que necessitaram de um estímulo com gramatura superior do filamento de Von Frey para que respondessem com a retirada da pata. Através da análise de ANOVA de duas vias, os grupos exercitados apresentaram um aumento significativo na variação de sensibilidade mecânica comparado aos respectivos grupos controles ($P = 0,01$ entre os machos e $P = 0,0003$ entre as fêmeas). A ANOVA de duas vias indicou efeito para a intervenção exercício físico [$F(1,76) = 23,49$; $P < 0,001$], mas não para o sexo [$F(1,76) = 0,6060$; $P = 0,4387$] e para a interação sexo x exercício físico [$F(1,76) = 1,271$; $P = 0,2632$].

Nós avaliamos também a sensibilidade dos camundongos ao frio através do teste de exposição à acetona (figuras 8-D-F). Todos os animais foram submetidos ao teste de exposição à acetona antes de realizarmos qualquer manipulação, a fim de assegurarmos a resposta basal dos animais (figura 8-D). O teste T de Student demonstrou diferenças significativas entre os animais de distintos sexos nas respostas comportamentais observadas no teste de exposição à acetona [$t(78) = 1,635$; $P < 0,0343$]. Em suma, os dados reportam que as fêmeas apresentaram maiores escores de respostas comportamentais que os machos no teste de hiperalgesia térmica ao frio.

A figura 8-E mostra o efeito do protocolo de exercício físico nas respostas comportamentais de camundongos machos e fêmeas no teste de hiperalgesia induzida pela exposição à acetona. Considerando que o valor da média dos respectivos grupos controles foram consideradas 100%, os grupos exercitados apresentaram uma redução percentual nas respostas comportamentais ao estímulo frio em machos ($P = 0,0004$) e fêmeas ($P < 0,0001$). O teste T de Student revelou que o exercício físico aeróbico reduziu os escores comportamentais no teste de exposição à acetona em camundongos fêmeas [$t(76) = 18,29$; $P < 0,01$], e em camundongos machos [$t(76) = 18,29$; $P < 0,01$].

Finalmente, na figura 8-F, verificamos a variação da resposta ao estímulo ao frio (escores no teste de hiperalgesia ao frio ao final do protocolo experimental menos os escores no teste de hiperalgesia ao frio basal) entre os grupos controles e exercitados. Os grupos exercitados (machos e fêmeas) apresentaram uma variação negativa nos escores comportamentais no teste de exposição à acetona, indicando que responderam menos ao estímulo frio. A análise ANOVA de duas vias nos mostra que os animais exercitados apresentaram uma redução significativa na variação comparada aos respectivos grupos controles ($P=0,007$ entre os machos e $P<0,0001$ entre fêmeas). A ANOVA de duas vias indicou efeito para a intervenção exercício físico [$F(1,78)=31,46$; $P <0,001$], mas não para o sexo [$F(1,78)= 1,621$; $P = 0,2067$] e para a interação sexo x exercício físico [$F(1,78)=0,1265$; $P = 0,7231$].

Através de nossos resultados nos dois testes somestésicos distintos analisados, geramos fortes subsídios científicos de que o dimorfismo sexual é um componente importante a ser analisado nas respostas somestésicas e que o exercício físico aeróbico foi suficiente para modificar o limiar de sensibilidade dos animais de ambos os sexos.



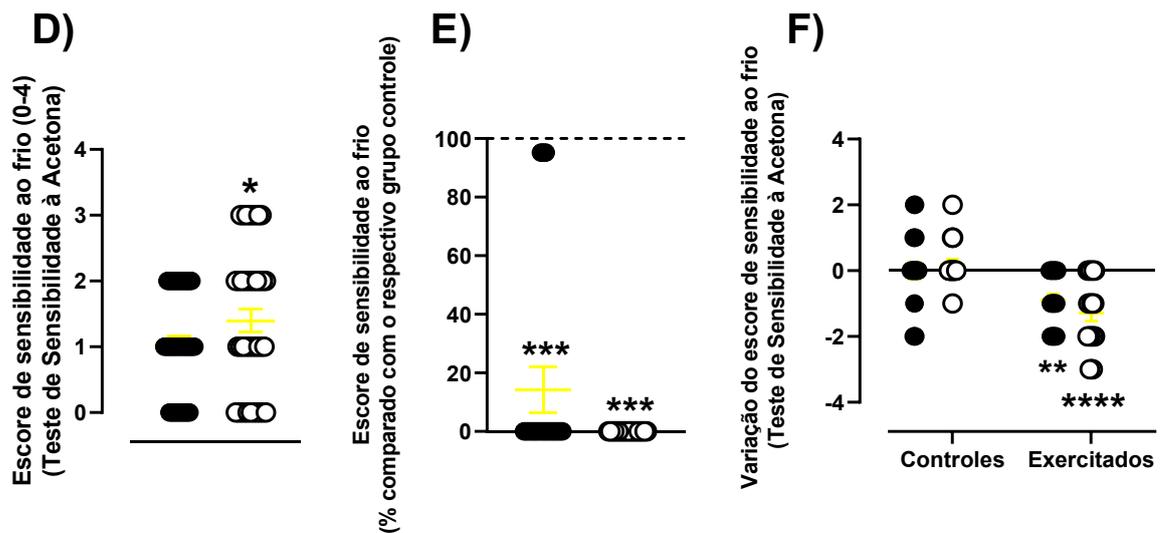


Figura 8: Efeito do exercício físico aeróbico sobre a sensibilidade mecânica e térmica ao frio em camundongos adultos machos e fêmeas. A) Teste de sensibilidade mecânica Von Frey – Up and Down, basal. B) Comparação do limiar de sensibilidade mecânica entre os grupos exercitados e controles, machos e fêmeas (valores em %). C) Variação do limiar de sensibilidade mecânica. D) Teste de sensibilidade térmica ao frio pela exposição à acetona, basal. E) Comparação da resposta ao frio entre controles e exercitados (valores em %). F) Variação da resposta ao frio. (N= 20 por grupo) * $P < 0,05$; ** $P < 0,005$; *** $P < 0,0005$.

5.3. OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO SOBRE A LOCOMOÇÃO ESPONTÂNEA E AS RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS DOS ANIMAIS FRENTE À ESTÍMULOS ESTRESSANTES

5.3.1. Exercício Físico Aeróbico Altera a Atividade Locomotora de Camundongos Adultos de Forma Distinta Entre Machos E Fêmeas no Teste de Campo Aberto

Ao avaliar a locomoção espontânea dos animais, verificou-se que o exercício físico aeróbico não gerou alteração significativa na ambulação dos animais, desde que não houve diferenças significativas no número de cruzamentos no campo aberto entre os grupos experimentais (Figura 9). No entanto, quando se avaliou as diferenças entre os sexos, observou-se que ambos os grupos compostos por fêmeas apresentaram maior número de cruzamentos comparado aos machos ($P < 0,0001$). ANOVA de duas vias revelou significância para o fator sexo [$F(1, 20) = 47,95$], e para o fator exercício físico [$F(1, 20) = 5,864$], mas não para a interação entre o sexo e o exercício físico [$F(1, 20) = 0,02032$].

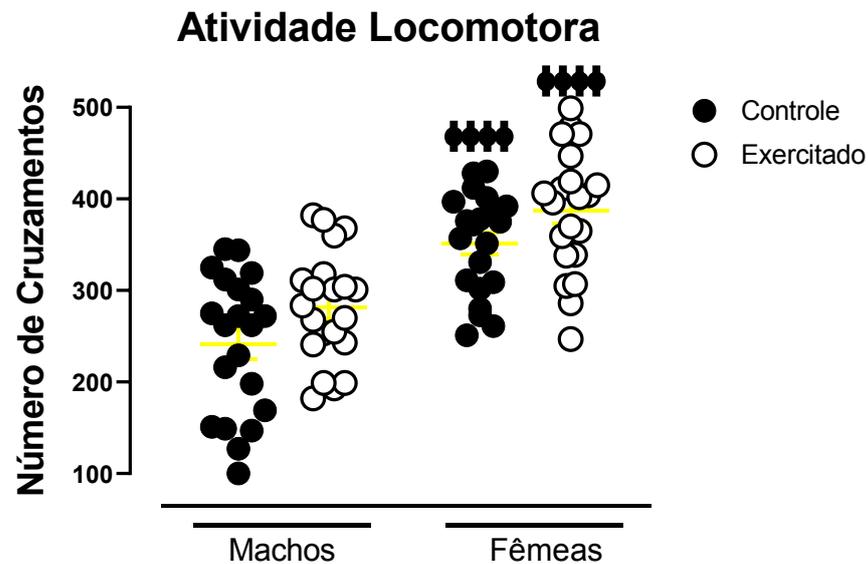


Figura 9: Atividade locomotora em camundongos adultos machos e fêmeas submetidos ao protocolo de exercício físico aeróbico. Número de cruzamentos dos animais de distintos grupos experimentais submetidos ao teste do campo aberto. ANOVA de duas vias (Média±EPM), seguido de post-hoc Tukey. (N= 20 por grupo) *P<0,05; **P<0,005; ***P<0,0005. * comparação entre controle e exercício, # comparação de medidas repetidas, φ comparação entre macho e fêmea.

5.3.2. Efeitos Ansiolítico e de Resiliência ao estresse induzidos pelo Exercício Físico Aeróbico em Camundongos Machos e Fêmeas Mantidos em Condições Laboratoriais.

A figura 10 apresenta o tempo total de permanência dos animais na periferia e no centro do campo aberto. Os grupos controles machos e fêmeas não apresentaram diferença no tempo de permanência no centro do campo aberto. Quando avaliamos o efeito do exercício físico, o grupo machos exercitados permaneceu mais tempo no centro do aparato, quando comparado ao grupo machos controles (P=0,0009). Além disso, não houve diferença estatística entre os grupos fêmeas exercitadas e fêmeas controles em relação ao tempo no centro do campo aberto. ANOVA de duas vias revelou significância para os fatores sexo [F (1, 18) = 6,277; P<0,05], mas sem significância para exercício [F (1, 18) = 2,318; P>0,05] e a interação entre sexo e exercício [F (1, 18) = 2,867; P>0,05].

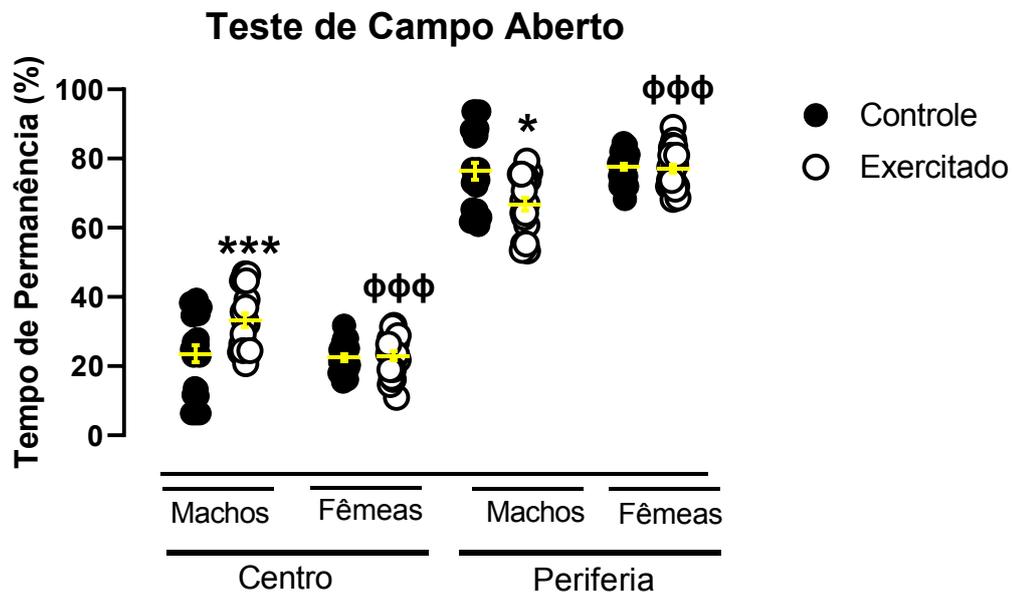


Figura 10: Avaliação do tempo de permanência no centro e periferia no campo aberto em camundongos adultos machos e fêmeas submetidos ao protocolo de exercício físico aeróbico. ANOVA de duas vias (Média ±EPM). (N= 20 por grupo) *P<0,05; **P<0,005; *P<0,0005. * comparação entre controle e exercício, φ comparação entre macho e fêmea.**

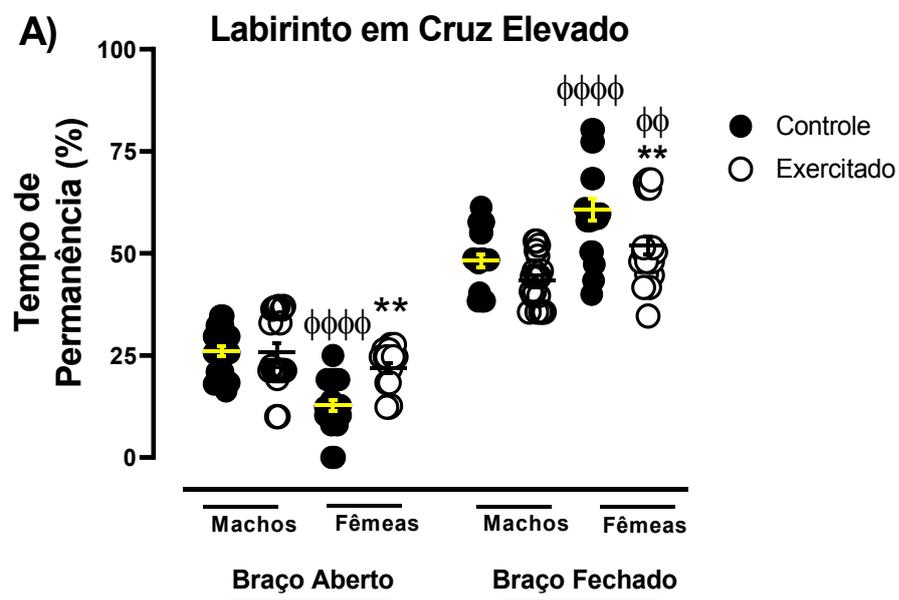
Na Figura 11-A encontram-se os resultados obtidos de animais expostos ao teste do labirinto em cruz elevado. Os resultados demonstram que camundongos fêmeas permaneceram menos tempo nos braços abertos, comparado aos machos (P=0,003). Além disso, não houve efeito do exercício físico nos animais machos em relação ao tempo de permanência no braço aberto. No entanto, camundongos fêmeas exercitados apresentaram um aumento (P=0,002) no tempo de permanência no braço aberto em comparação às fêmeas controles. ANOVA de duas vias identificou significância para os fatores sexo [F (3, 57) = 165,1] e para a interação entre sexo e exercício [F (3, 57) = 9,443], mas não para o fator exercício [F (1, 19) = 1,200].

Nós também verificamos que camundongos fêmeas, mas não machos, exercitados reduziram o tempo de permanência nos braços fechados, comparado aos respectivos controles (P=0,003). ANOVA de duas vias.

Ainda, ao investigar o tempo total de avaliação de risco (Figura 11-B) demonstrou-se que ambos os grupos exercitados machos e fêmeas apresentaram menor tempo de avaliação de risco comparado aos seus respectivos grupos controles (machos controles P <0,0001; fêmeas controles P <0,0001). Também foi verificado

que os grupos experimentais de fêmeas apresentaram menor tempo de avaliação de risco comparado aos respectivos machos (fêmeas controles $P = 0,0016$; fêmeas exercitadas $P = 0,0014$). A ANOVA de duas vias revelou significância para o fator sexo [$F(1, 19) = 42,74$; $P < 0,0001$]; fator exercício físico [$F(1, 19) = 140,4$; $P < 0,0001$], mas não para a interação entre sexo e exercício [$F(1, 19) = 0,02099$; $P > 0,05$].

O teste utilizado para avaliar a resposta comportamental dos animais frente a um estresse agudo e inescapável foi o teste de suspensão pela cauda (Figura 11-C). Quando avaliamos através do teste de ANOVA de duas vias, não houve diferença estatística quanto ao fator sexo [$F(1, 20) = 0,03200$; $P > 0,05$] nem para a interação entre sexo e exercício [$F(1, 20) = 0,09782$; $P > 0,05$], mas teve para o fator exercício, [$F(1, 20) = 106,0$; $P < 0,0001$]. Neste sentido, os grupos exercitados machos e fêmeas apresentaram menor tempo imóvel comparado aos grupos controles ($P < 0,0001$).



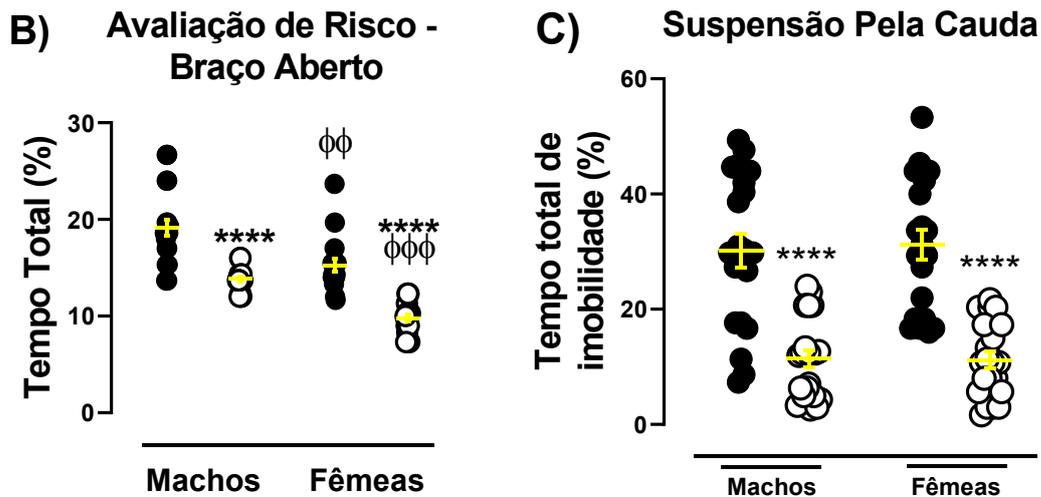


Figura 11: Efeito tipo-ansiolítico e de resiliência ao estresse induzidos pelo exercício físico aeróbico. A e B) Labirinto em Cruz Elevado, ANOVA de duas vias, post hoc Tukey e Sidak, respectivamente C) Teste de Suspensão Pela Cauda – tempo total de imobilidade. Anova de duas vias, post hoc Sidak. Média±EPM. (N= 20 por grupo) * $P < 0,05$; ** $P < 0,005$; *** $P < 0,0005$. * comparação entre controle e exercício, ϕ comparação entre macho e fêmea.

5.4. OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO SOBRE O PERFIL COGNITIVO E APRENDIZAGEM DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A TAREFAS DE MEMÓRIA

5.4.1. Exercício Físico Aeróbico Impacta a Memória Espacial e Associativa Condicionada ao Medo em Camundongos, de Forma Diferente Entre Machos e Fêmeas

No teste de Reconhecimento de Objetos (Figura 12-A), avaliamos o índice de discriminação. Os resultados demonstram que todos os grupos experimentais interagiram por mais tempo com o objeto não-familiar comparado ao objeto familiar (pontuação acima de Zero). Contudo, o exercício físico aeróbico promoveu melhor índice discriminativo tanto em animais machos quanto em fêmeas, comparado aos seus respectivos grupos controles [(Machos $P < 0,0001$; Fêmeas $P < 0,0001$). A ANOVA de duas vias revelou efeito para o fator exercício físico [$F(1, 38) = 109,6$; $p < 0,0001$], mas não para o sexo [$F(1, 38) = 0,9717$; $P = 0,3305$] ou para a interação exercício físico e sexo [$F(1, 38) = 3,168$; $P = 0,0831$].

Na figura 11-B encontram-se os resultados referentes ao teste de esquiiva inibitória da descida do tipo *step down*, um indicativo de memória aversiva. Na sessão de teste, todos os animais foram reexpostos ao aparato a fim de verificar a aprendizagem e memória associativa em cinco momentos distintos: 24 horas, 7, 14, 21 e 28 dias após o treino no aparato. A análise estatística demonstrou que todos os grupos apresentaram aumento significativo no tempo de latência para a descida da plataforma 24h após o treino comparado ao tempo basal.

Quando se avaliou a persistência da memória aversiva, constatou-se que o grupo machos controles manteve o aprendizado por sete dias, não apresentando diferença significativa à basal na latência de descida a partir do décimo quarto dia, e as fêmeas controles mantiveram apenas na avaliação de 24 horas após o treino, não havendo diferença estatística da latência basal do sétimo dia em diante, demonstrando uma possível extinção da memória. Os grupos que realizaram o exercício físico aeróbico tiveram significativa maior persistência da memória comparado aos respectivos grupos controles. O grupo Macho Exercitado manteve o tempo de latência diferente do basal por 14 dias ($P=0,0028$), não havendo diferença significativa a partir do vigésimo primeiro dia (24h $P=0,007$; 7d $P=0,002$; 14d $P=0,002$; 21d $P=0,1$) e o grupo Fêmeas Exercitado manteve o tempo de latência para descer da plataforma diferente do basal até o vigésimo primeiro dia (exceto pelo 14º dia), reduzindo a significância da latência para descer da plataforma novamente a partir do vigésimo oitavo dia (24h $P=0,005$; 7d $P=0,005$; 14d $P=0,2$; 21d $P=0,03$; 28d $P>0,9$). O teste H de Kruskal Wallis seguido pelo post-hoc de Dunn revelou significância para os diferentes tempos em que a memória foi avaliada [$H(5) = 291,0$; $P<0,0001$]. Sendo assim, esses resultados sugerem fortemente que o exercício físico aeróbico promoveu uma maior persistência da memória associativa dos animais no teste de esquiiva inibitória de descida do tipo *step down*.

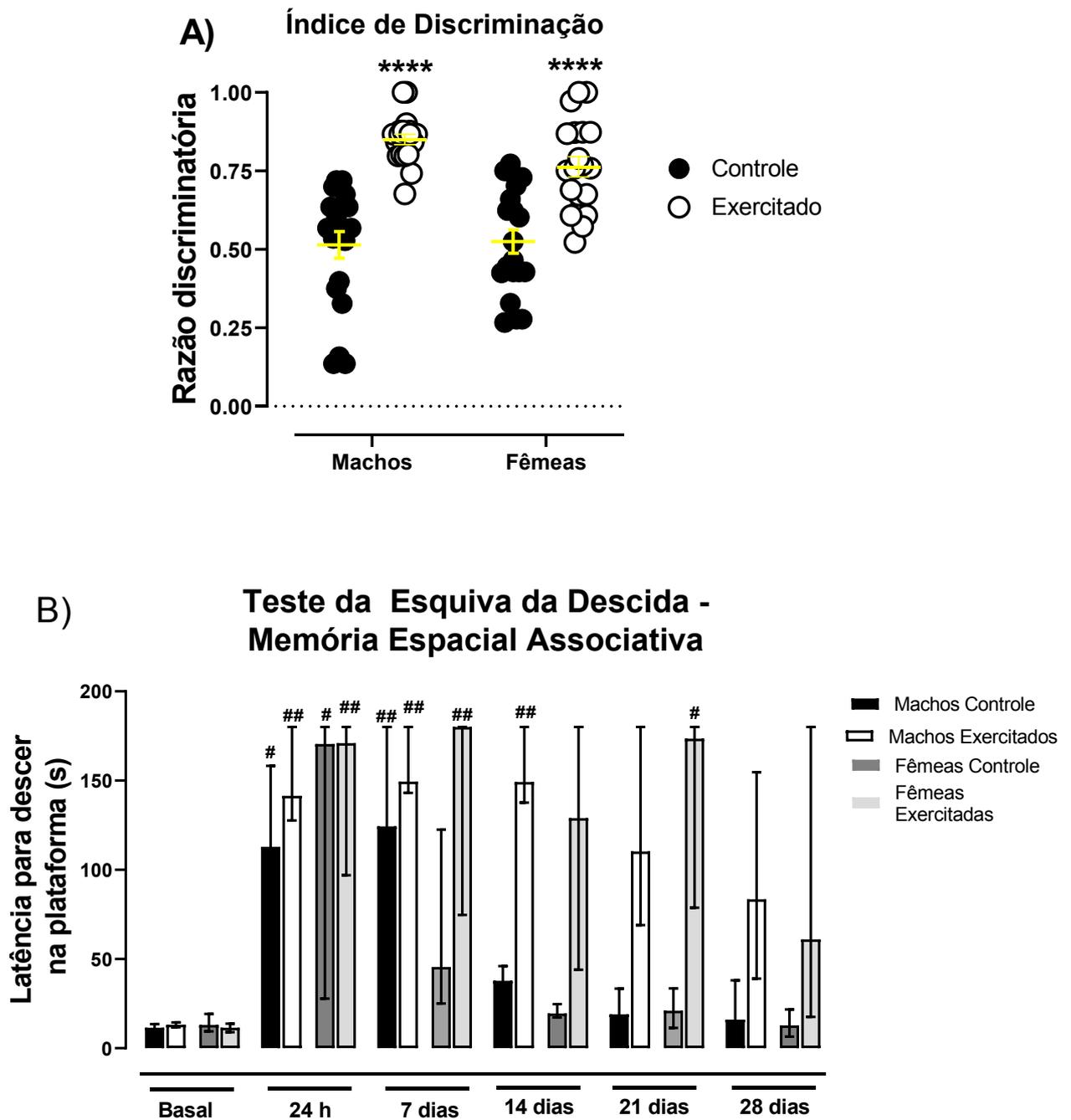
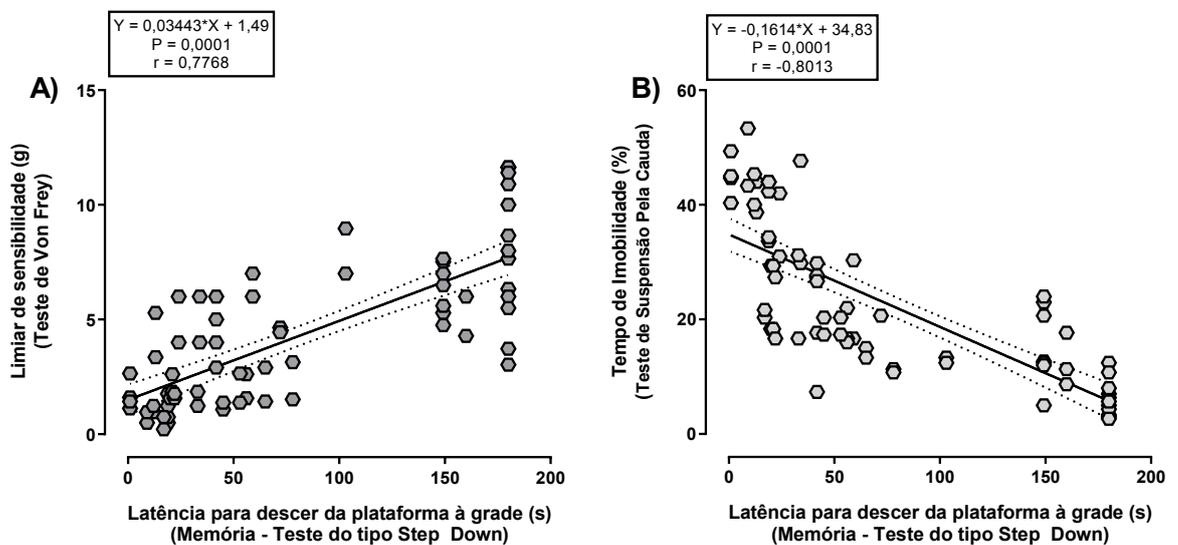


Figura 12: Efeito do Exercício Físico Aeróbico sobre a memória espacial e associativa de camundongos machos e fêmeas. A) Razão discriminatória $\{(Objeto\ Novo - Objeto\ Familiar) / (Objeto\ Novo + Objeto\ Familiar)\}$. ANOVA de duas vias ($N = 20$ por grupo) B) Avaliação da memória associativa em 5 momentos distintos. Kruskal-Wallis, mediana com interquartil. ($N = 20$ por grupo) * $P < 0,05$; ** $P < 0,005$; * $P < 0,0005$. * comparação entre controle e exercício, # comparação com o basal, ϕ comparação entre macho e fêmea.**

5.5. CORRELAÇÃO ENTRE OS FATORES SENSORIAIS, EMOCIONAIS E COGNITIVOS SOB DIFERENTES PERSPECTIVAS

Na figura 13 reunimos os dados comportamentais de todos os grupos analisados, independentemente do sexo ou realização de exercício físico aeróbico e correlacionamos o perfil sensório-emocional-cognitivo das variáveis comportamentais analisadas. Os dados obtidos nas figuras 13, 14, 15 e 16 são referentes à uma regressão linear de pontos formados por duas respectivas respostas comportamentais distintas obtidas por cada animal e nos indicam a equação da reta e o R referente. Além disso, nas figuras também são indicados o P referente ao coeficiente de Pearson. Na figura 13, os coeficientes das correlações R foram muito fortes nos painéis B e D, moderados nos painéis A e F, e fracas nos Painéis foram fracas em C e E.

Animais Experimentais



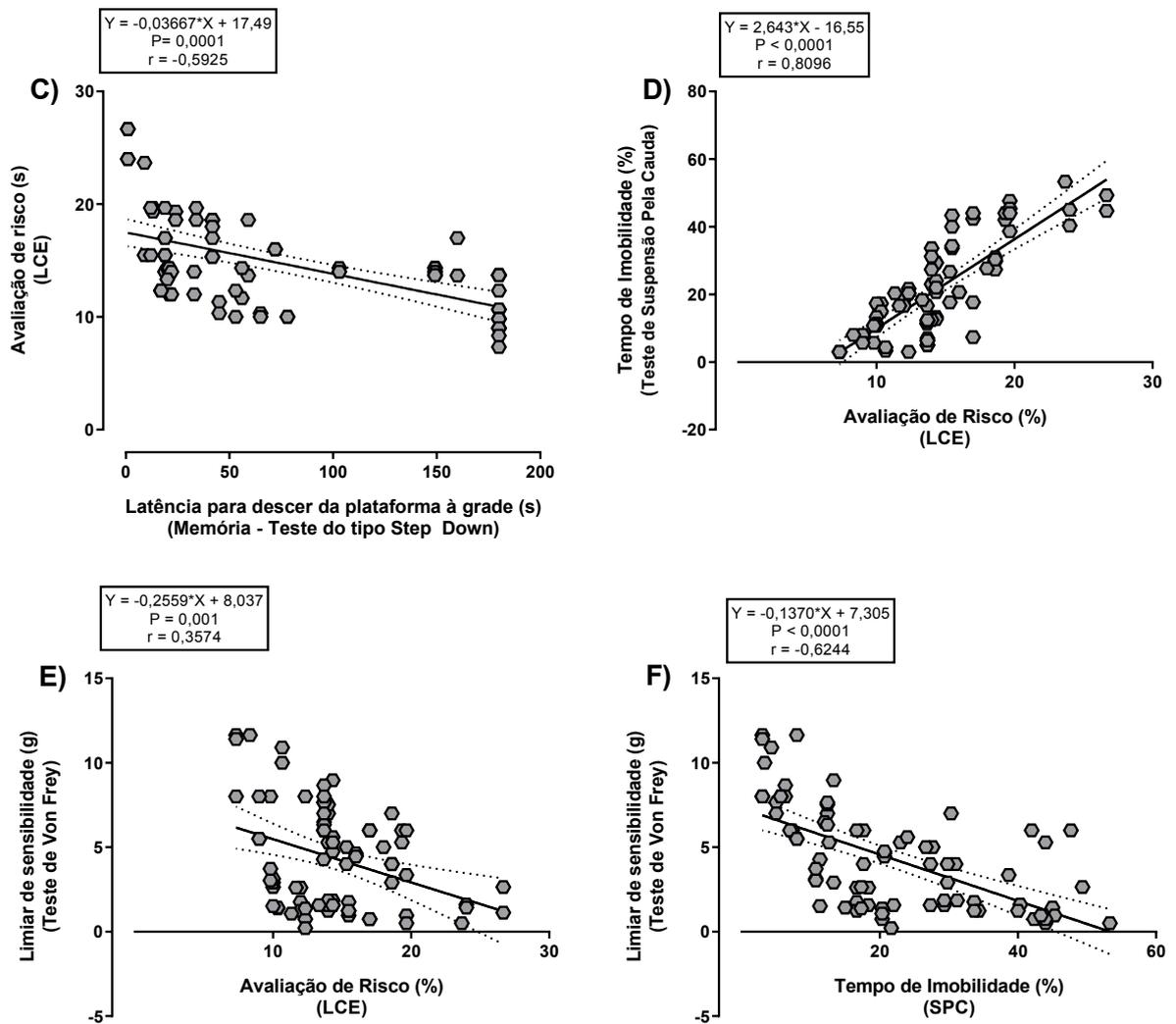


Figura 13: Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos – Uma visão geral. A) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e aprendizagem no teste de esquiwa inibitória de descida do tipo step down; B) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e aprendizagem no teste de esquiwa inibitória de descida do tipo step down; C) Correlação entre as variáveis: Tempo de avaliação de risco no teste de labirinto em cruz elevado e aprendizagem no teste de esquiwa inibitória de descida do tipo step down; D) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e o tempo de avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado; E) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e o tempo de avaliação de risco no teste de labirinto em cruz elevado e F) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda. Regressão linear seguida de análise do coeficiente de correlação de Pearson.

Na figura 14 reunimos os dados comportamentais de todos os camundongos machos, independente de terem participado ou não do protocolo de exercício físico aeróbico em esteira e correlacionamos as variáveis comportamentais analisadas. Os coeficientes de correlações foram muito fortes nas correlações representadas nos painéis B, C e D; e moderados nas correlações observadas nos painéis A, E e F.

Machos

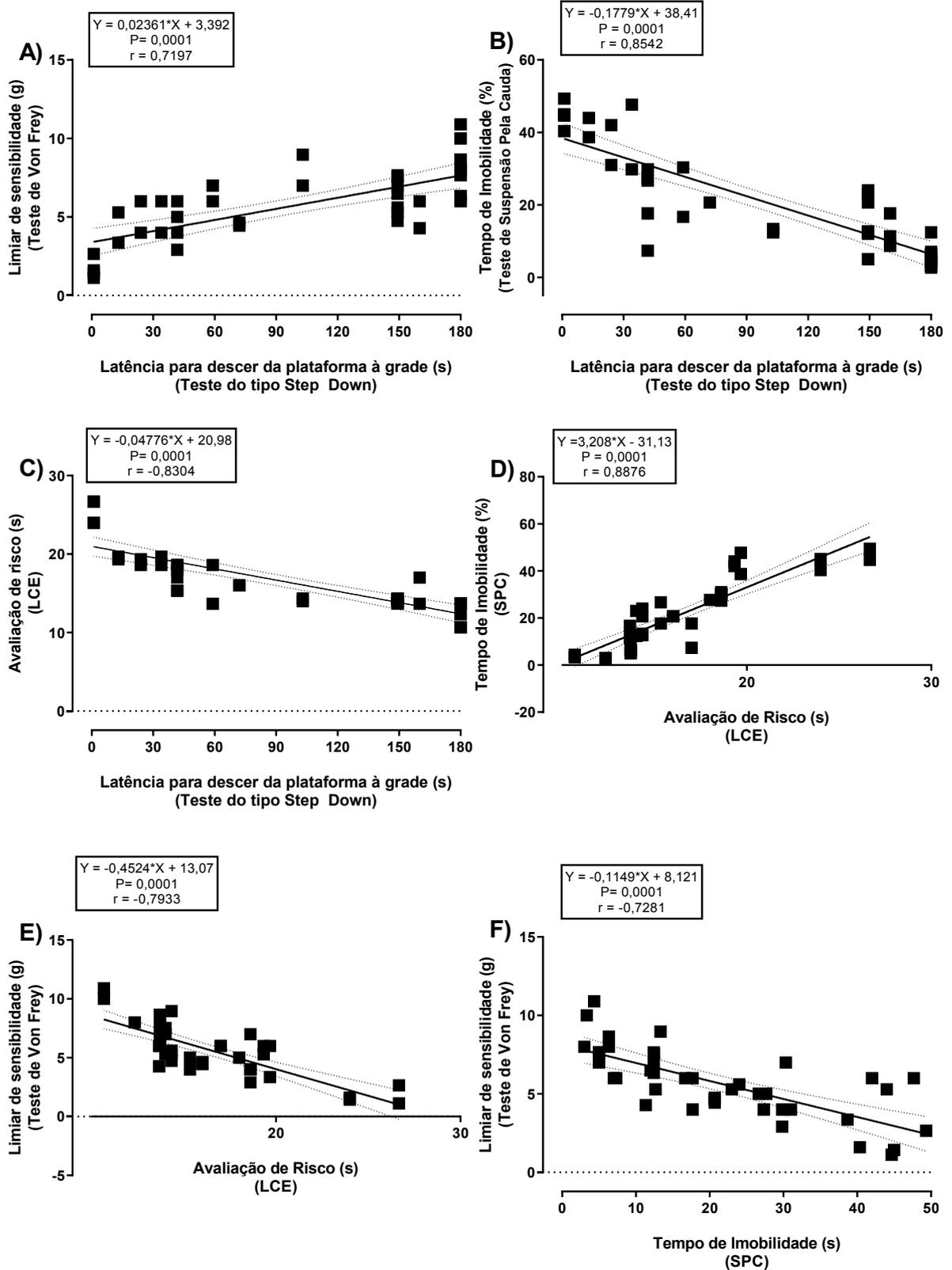
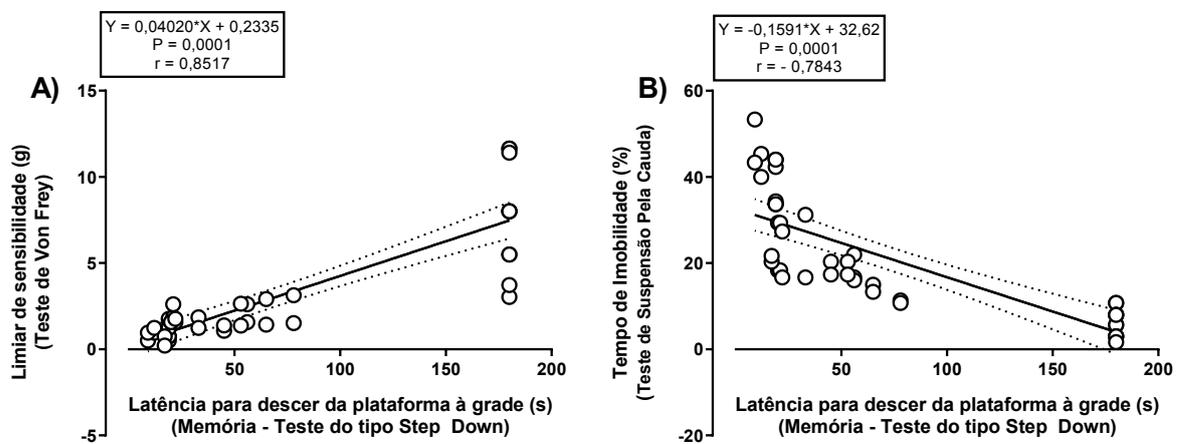


Figura 14: Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos machos. A) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e aprendizagem no teste de esqui inibitória de descida do tipo step down; B) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e aprendizagem no teste de esqui inibitória de descida do tipo step down; C)

Correlação entre as variáveis: Tempo de avaliação de risco no teste no labirinto em cruz elevado e aprendizagem no teste de esquiva inibitória de descida do tipo step down; D) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e o tempo de avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado; E) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e o tempo de avaliação de risco no teste de labirinto em cruz elevado e F) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda. Regressão linear seguida de análise do coeficiente de correlação de Pearson.

Na figura 15 reunimos os dados comportamentais de todos os camundongos fêmeas, de ambos os grupos controle e exercitadas, e correlacionamos as variáveis comportamentais analisadas. Na figura 15, os coeficientes das correlações R foram muito fortes nos painéis A e D, moderados nos painéis B, C, E e F.

Fêmeas



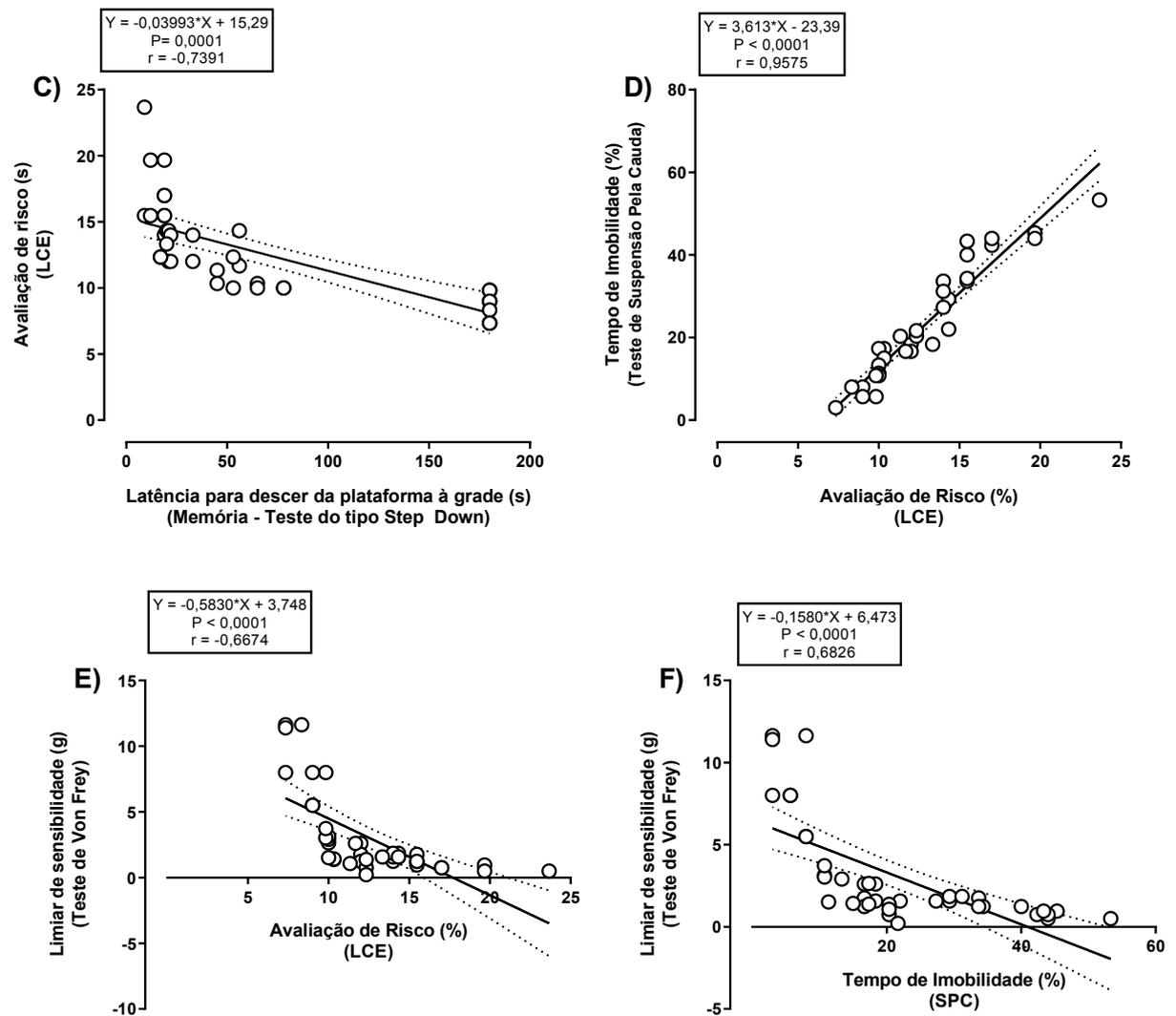
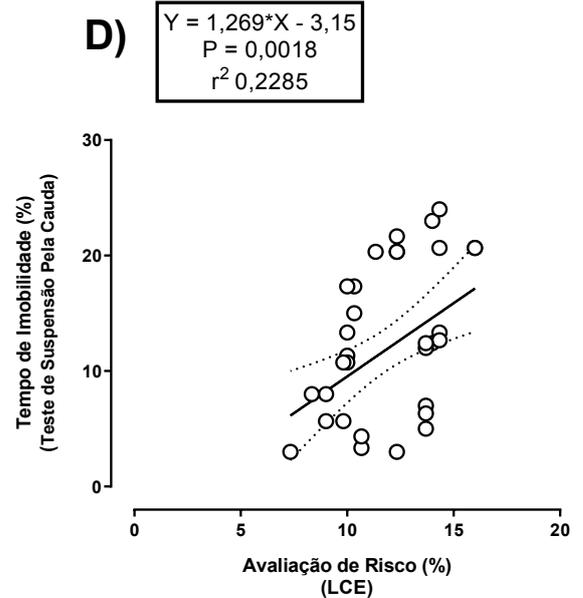
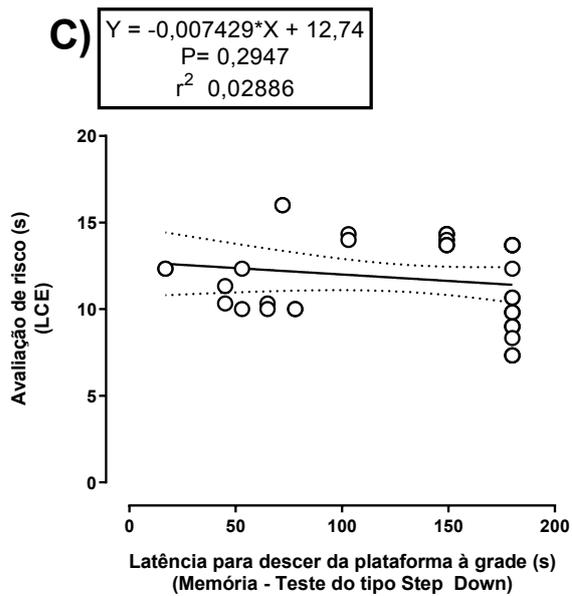
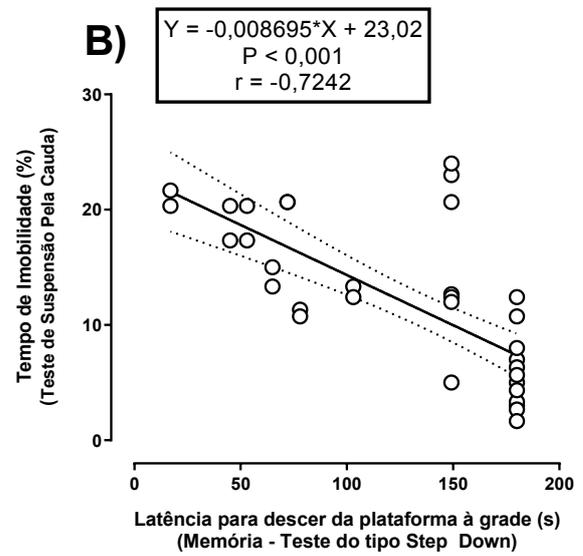
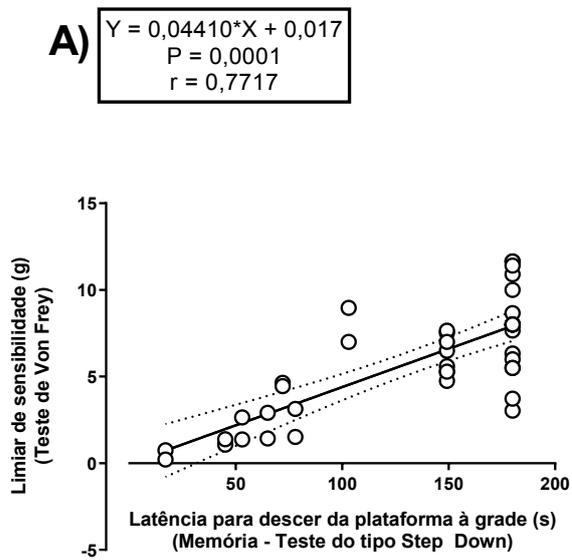


Figura 15: Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos fêmeas. A) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e aprendizagem no teste de esqui inibitória de descida do tipo step down; B) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e aprendizagem no teste de esqui inibitória de descida do tipo step down; C) Correlação entre as variáveis: Tempo de avaliação de risco no teste no labirinto em cruz elevado e aprendizagem no teste de esqui inibitória de descida do tipo step down; D) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e o tempo de avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado; E) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e o tempo de avaliação de risco no teste de labirinto em cruz elevado e F) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda. Regressão linear seguida de análise do coeficiente de correlação de Pearson.

Na figura 16 reunimos os dados comportamentais de todos os camundongos exercitados, independente do sexo, e correlacionamos as variáveis comportamentais analisadas. Na figura 16, os coeficientes das correlações r foram moderados nos painéis A, B e F, fraco no Painel D, e pobres nos painéis C e E.

Exercício



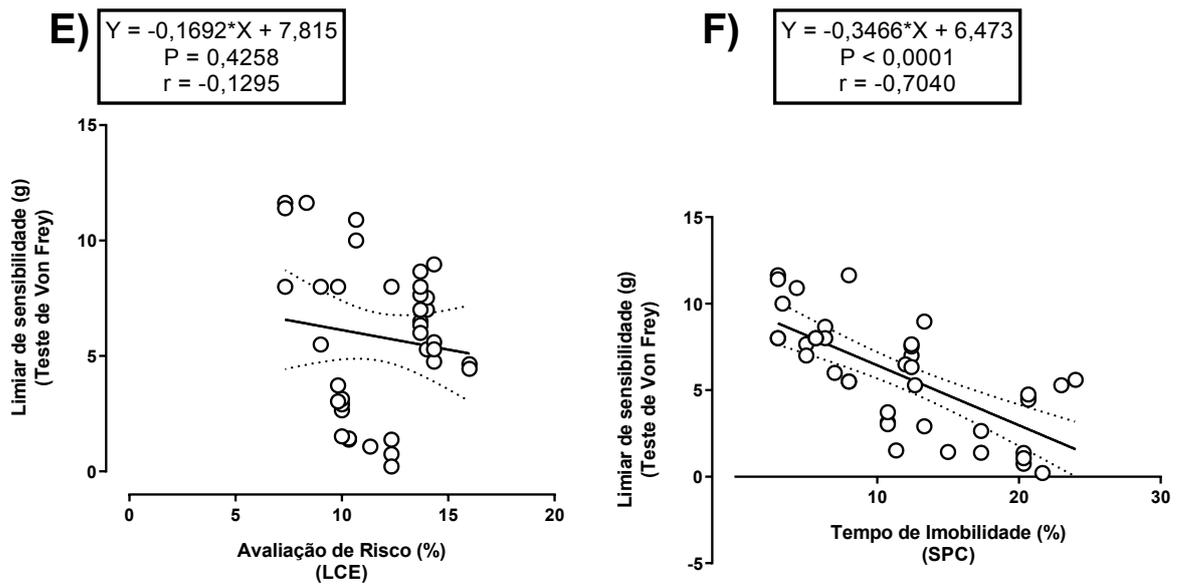


Figura 16: Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos exercitados.

A) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e aprendizagem no teste de esquiwa inibitória de descida do tipo step down; B) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e aprendizagem no teste de esquiwa inibitória de descida do tipo step down; C) Correlação entre as variáveis: Tempo de avaliação de risco no teste no labirinto em cruz elevado e aprendizagem no teste de esquiwa inibitória de descida do tipo step down; D) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e o tempo de avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado; E) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e o tempo de avaliação de risco no teste de labirinto em cruz elevado e F) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda. Regressão linear seguida de análise do coeficiente de correlação de Pearson.

5.6. CORRELAÇÃO ENTRE OS FATORES SENSORIAL, EMOCIONAL E COGNITIVO E O PROGRAMA DE EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO EM CAMUNDONGOS MACHOS E FÊMEAS MANTIDOS EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS

Nas figuras 17, 18, 19 e 20 encontram-se os resultados referentes a correlação entre as variáveis comportamentais analisadas em grupos de animais estratificados. Os dados obtidos são referentes à uma regressão linear de pontos formados por duas respectivas respostas comportamentais distintas obtidas por cada animal e nos indicam a equação da reta e o R referente. Além disso, nas figuras também são indicados o P referente ao coeficiente de correlação de *Pearson*.

A figura 17 reporta correlações referentes aos resultados comportamentais obtidos em camundongos machos e não exercitados. Nestes animais, o tempo de latência para descer da plataforma no teste de esquiva inibitória de descida do tipo *step down* se correlaciona positivamente com o limiar de sensibilidade aos estímulos mecânicos e negativamente com o tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e o % de tempo gasto para avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado. Além disso, o limiar de sensibilidade aos estímulos mecânicos se correlaciona positivamente com o tempo de latência para descer da plataforma no teste de esquiva inibitória de descida do tipo *step down* e negativamente com o tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e o % de tempo gasto para avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado. Nossos resultados também demonstraram que o tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda se correlacionou negativamente com o tempo de latência para descer da plataforma no teste de esquiva inibitória de descida do tipo e o limiar de sensibilidade aos estímulos mecânicos e positivamente com o % de tempo gasto para avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado. Por fim, a figura 17 também reporta que o % de tempo gasto para avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado se correlaciona positivamente com o tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e negativamente com o tempo de latência para descer da plataforma no teste de esquiva inibitória de descida do tipo e o limiar de sensibilidade aos estímulos mecânicos.

A figura 18 reporta correlações referentes aos resultados comportamentais obtidos em camundongos machos e exercitados e seguiu o mesmo padrão de correlação dos animais machos e não exercitados. A figura 19 reporta correlações referentes aos resultados comportamentais obtidos em camundongos fêmeas e não exercitados e seguiu o mesmo padrão de correlação dos animais machos. Por fim, a figura 20 demonstra correlações referentes aos resultados comportamentais obtidos em camundongos fêmeas exercitados e também aponta para o mesmo padrão de correlação obtidos com os animais machos.

Com base na Tabela 1, os coeficientes de correlações de Pearson R foram muito fortes foram encontradas nas figuras: 17D, 18E, 19D e 20^a-F. Os coeficientes de correlações de Pearson R foram moderados nas figuras: 17B, 17C e 17E D; 18B, 18C, 18E, 19B, 19E, 19F. Os coeficientes de correlações de Pearson R foram fracos nas figuras: 17^a, 17F; 18^a; 19^a, e 19C.

Machos Controles

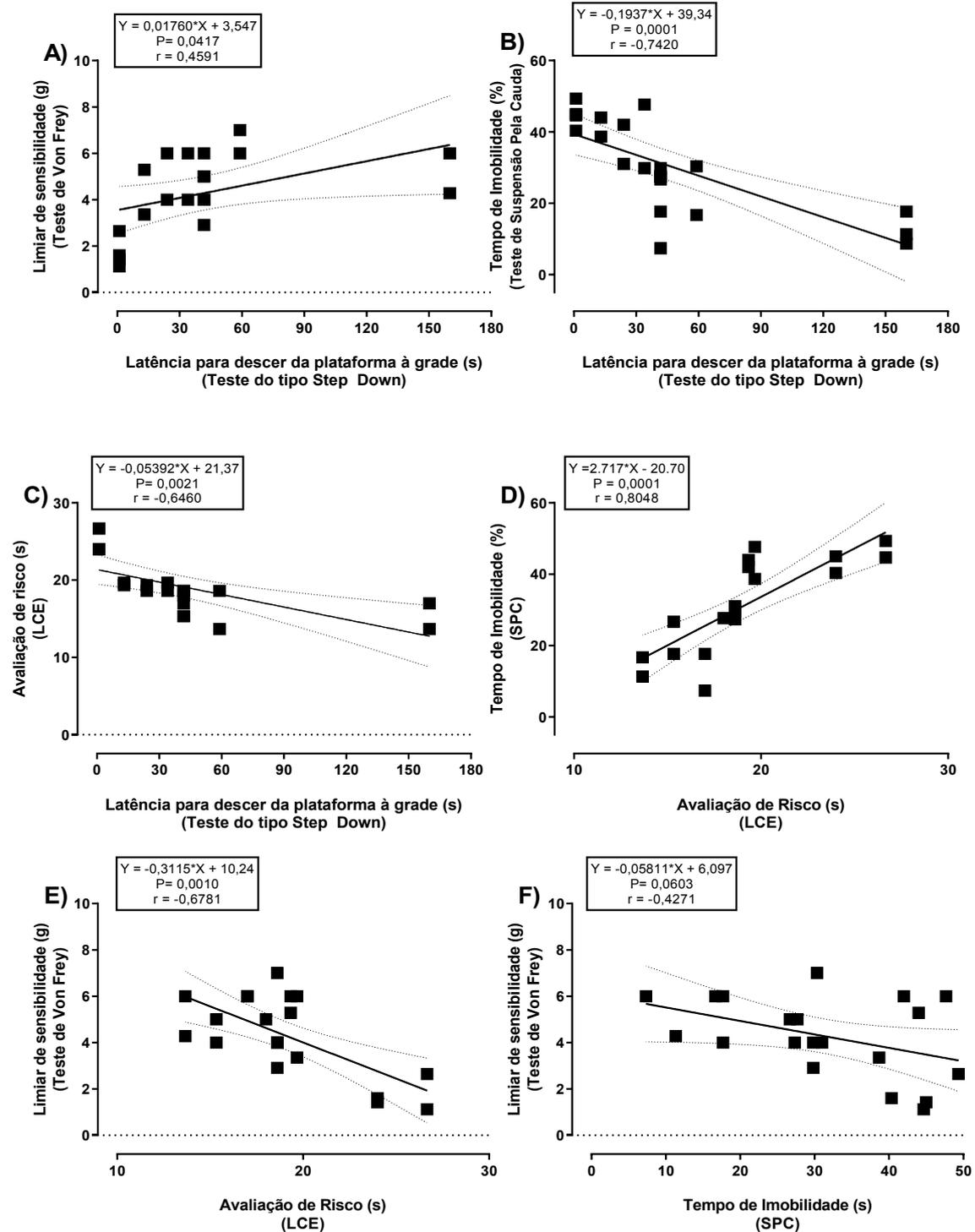
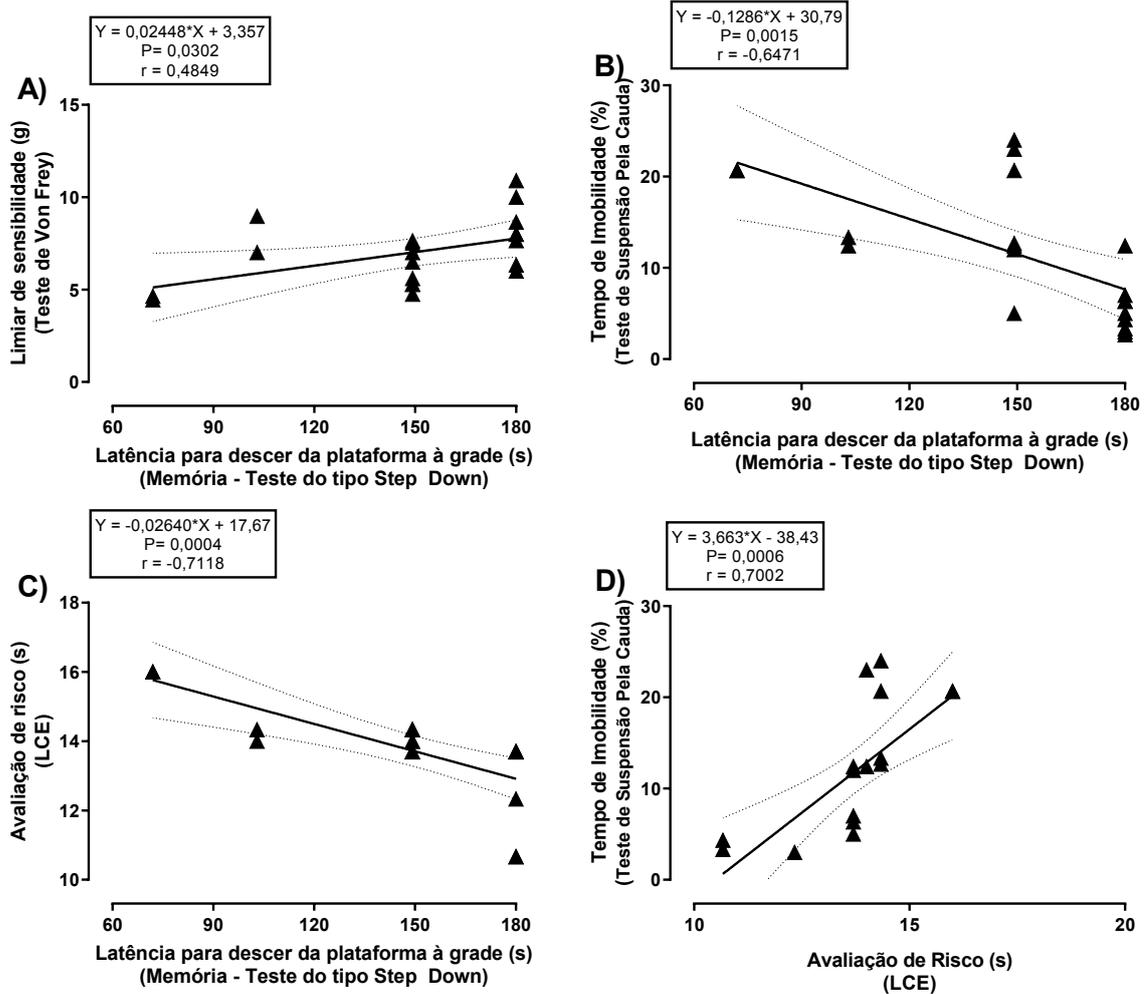


Figura 17: Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos machos controles. A) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e aprendizagem no teste de esquila inibitória de descida do tipo step down; B) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e aprendizagem no teste de esquila inibitória de descida do tipo step down; C) Correlação entre as variáveis: Tempo de avaliação de risco no teste no labirinto em cruz elevado e aprendizagem no teste de esquila inibitória de descida do tipo step down; D) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e o tempo de avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado; E) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e o tempo de avaliação de risco no teste de labirinto em cruz elevado e F) Correlação entre as variáveis:

Sensibilidade mecânica e tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda. Regressão linear seguida de análise do coeficiente de correlação de Pearson.

Machos Exercitados



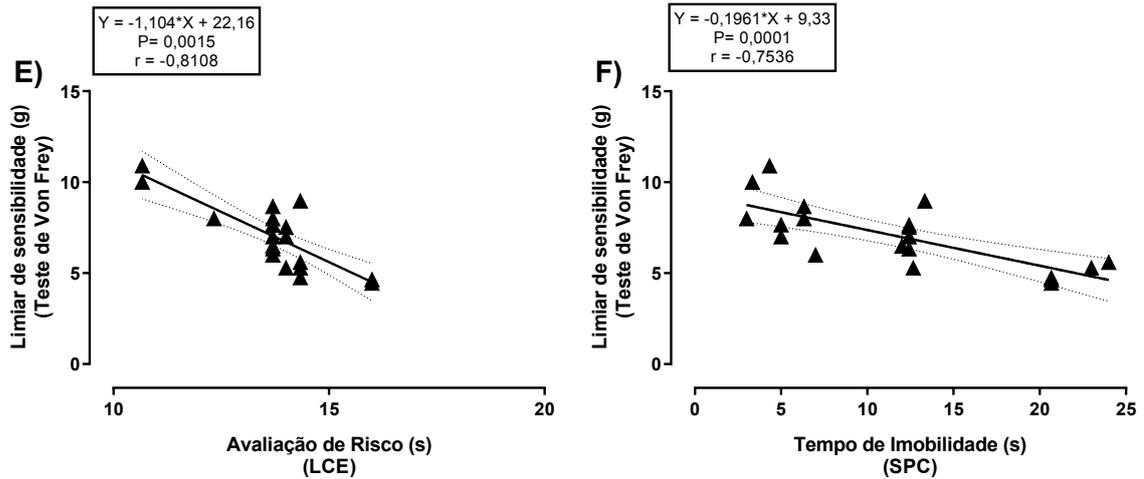
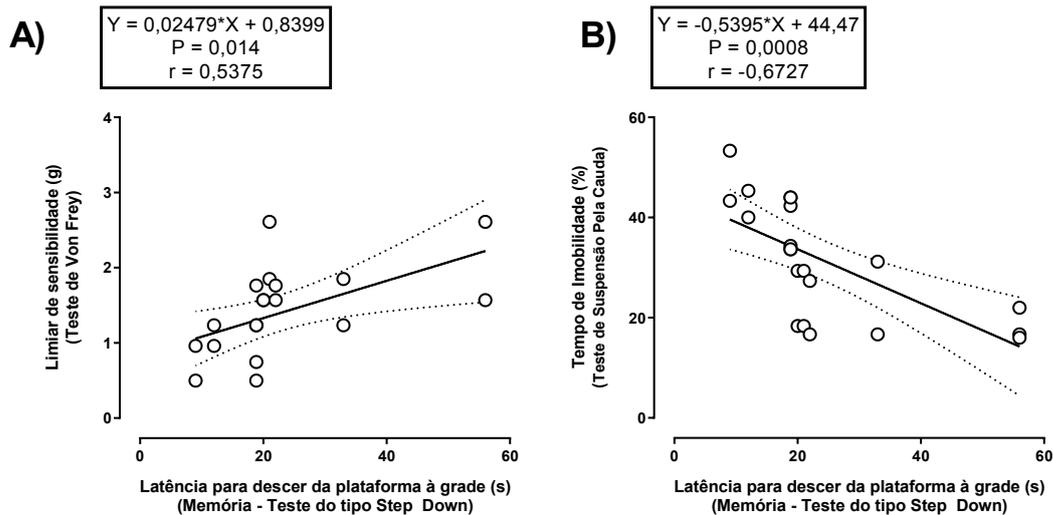


Figura 18: Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos machos exercitados. A) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e aprendizagem no teste de esqui inibitória de descida do tipo step down; B) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e aprendizagem no teste de esqui inibitória de descida do tipo step down; C) Correlação entre as variáveis: Tempo de avaliação de risco no teste no labirinto em cruz elevado e aprendizagem no teste de esqui inibitória de descida do tipo step down; D) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e o tempo de avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado; E) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e o tempo de avaliação de risco no teste de labirinto em cruz elevado e F) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda. Regressão linear seguida de análise do coeficiente de Pearson.

Fêmeas Controles



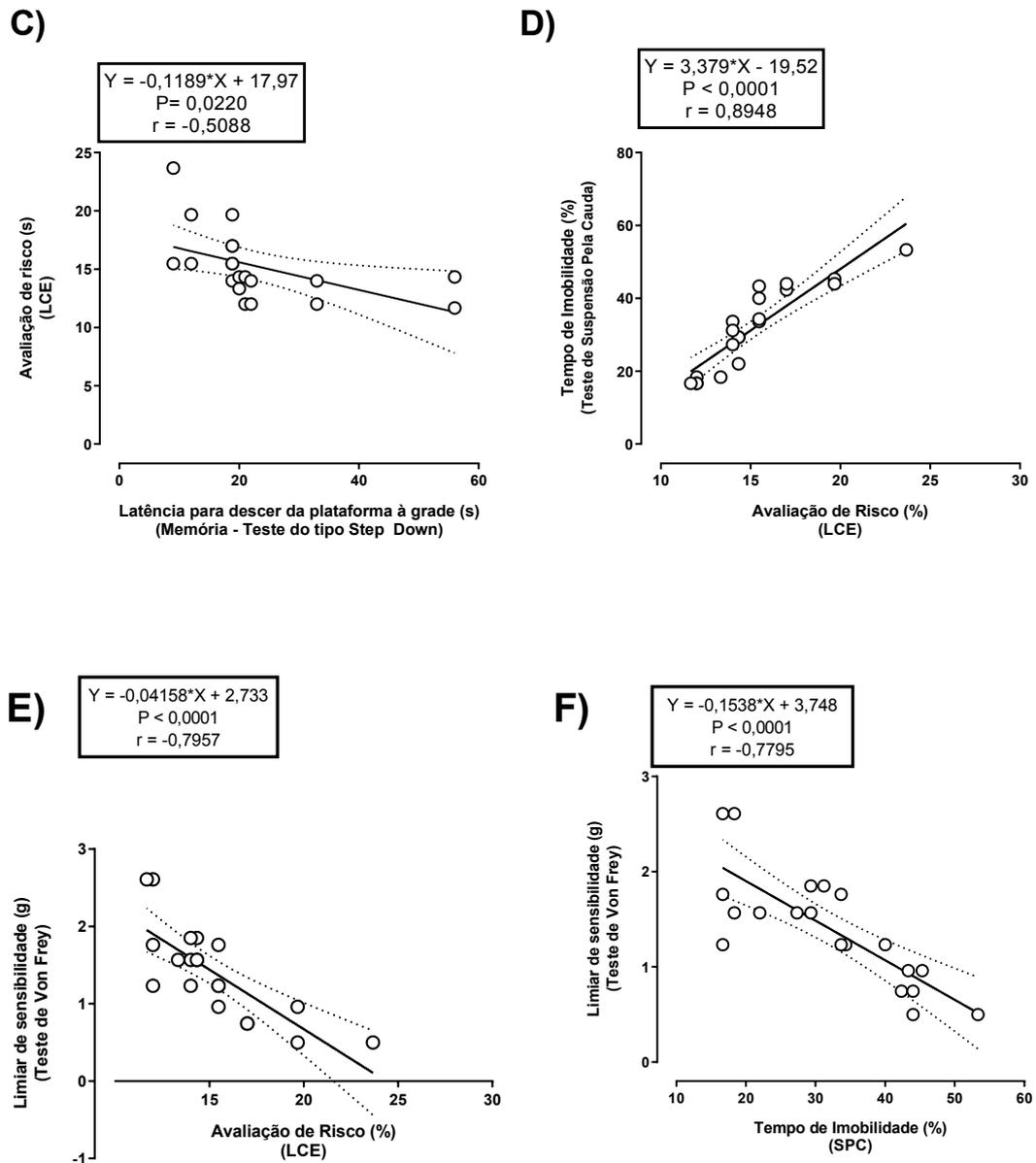


Figura 19: Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos fêmeas controles. A) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e aprendizagem no teste de esquila inibitória de descida do tipo step down; B) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e aprendizagem no teste de esquila inibitória de descida do tipo step down; C) Correlação entre as variáveis: Tempo de avaliação de risco no teste no labirinto em cruz elevado e aprendizagem no teste de esquila inibitória de descida do tipo step down; D) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e o tempo de avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado; E) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e o tempo de avaliação de risco no teste de labirinto em cruz elevado e F) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda. Regressão linear seguida de análise do coeficiente de correlação de Pearson.

Fêmeas Exercitadas

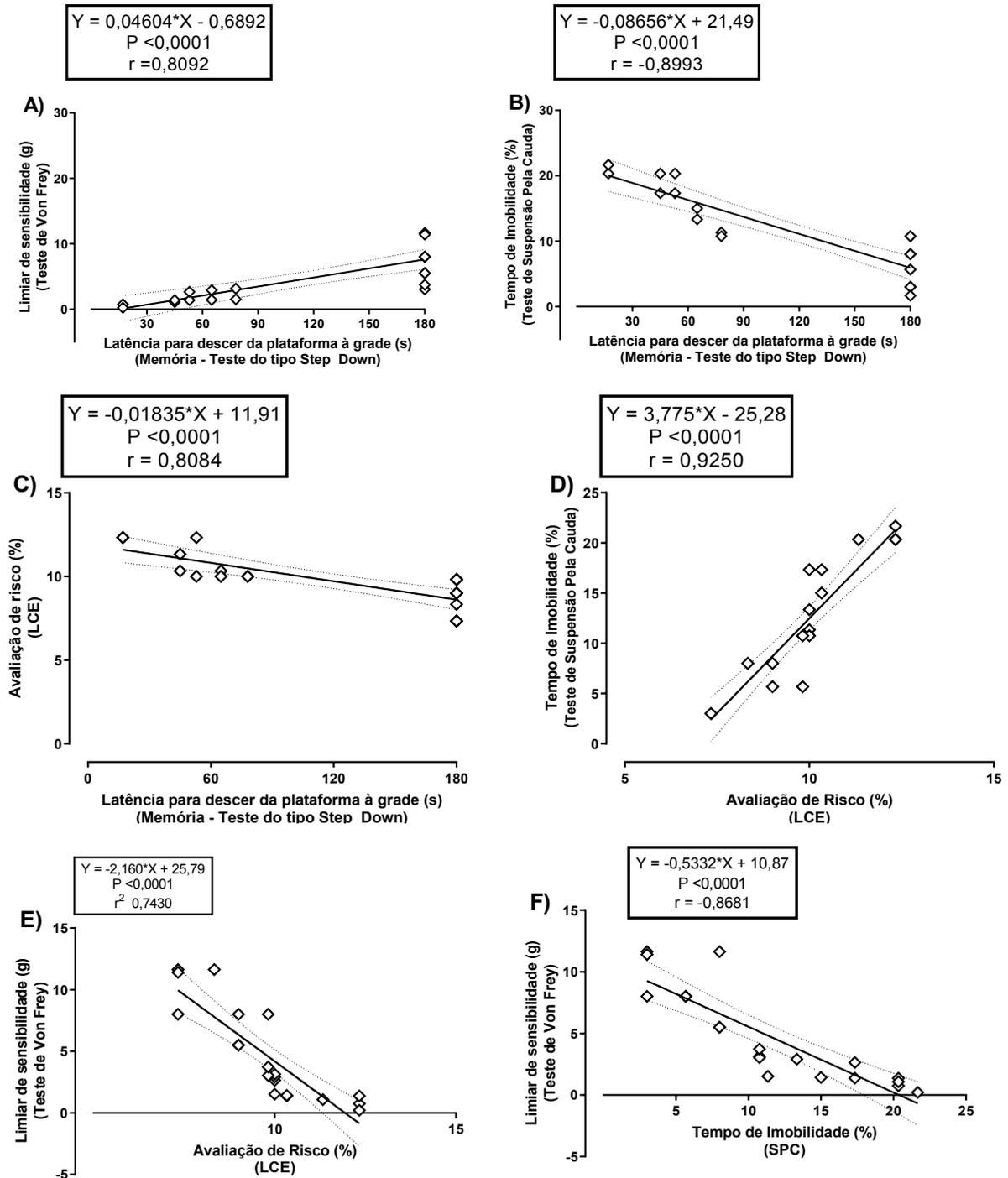


Figura 20: Correlação entre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos fêmeas exercitadas. A) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e aprendizagem no teste de esqui inibitória de descida do tipo step down; B) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e aprendizagem no teste de esqui inibitória de descida do tipo step down; C) Correlação entre as variáveis: Tempo de avaliação de risco no teste no labirinto em cruz elevado e aprendizagem no teste de esqui inibitória de descida do tipo step down; D) Correlação entre as variáveis: Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e o tempo de avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado; E) Correlação entre as variáveis: Sensibilidade mecânica e o tempo de avaliação de risco no teste de labirinto em cruz elevado e F) Correlação entre as variáveis:

Sensibilidade mecânica e tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda. Regressão linear seguida de análise do coeficiente de correlação de Pearson.

Para facilitar a compreensão acerca da força dos fatores de correlações realizadas entre as variáveis comportamentais criamos a tabela 2. Nesta tabela separamos as forças conforme as variáveis comportamentais e os grupos analisados, obtendo uma maior visualização das forças em relação ao dimorfismo sexual e do protocolo de exercício físico aeróbico proposto.

Correlação	Global	Machos	Fêmeas	Exercitados	Machos Exercitados	Fêmeas Exercitadas
Sensibilidade Mecânica x Memória Aversiva	Moderado	Moderado	Muito Forte	Moderado	Fraco	Muito Forte
Resiliência x Memória Aversiva	Muito Forte	Muito Forte	Moderado	Moderado	Moderado	Muito Forte
Avaliação de Risco x Memória Aversiva	Fraco	Muito Forte	Moderado	Pobre	Moderado	Muito Forte
Resiliência x Avaliação de Risco	Muito Forte	Muito Forte	Muito Forte	Fraco	Moderado	Muito Forte
Sensibilidade Mecânica x Avaliação de Risco	Fraco	Moderado	Moderado	Fraco	Muito Forte	Muito Forte
Sensibilidade Mecânica x Resiliência	Moderado	Moderado	Moderado	Moderado	Moderado	Muito Forte

Tabela 2: Força dos fatores de correlações comportamentais analisados sob diferentes agrupamentos: Global (todos os grupos experimentais), Machos (grupos machos controle e exercitados), Fêmeas (grupos controle e exercitadas), Exercitados (grupos machos e fêmeas), Machos exercitados e Fêmeas exercitadas.

5.7. CORRELAÇÃO ENTRE O PESO CORPORAL E DESEMPENHO AERÓBICO NO TESTE DE ESFORÇO INCREMENTAL EM CAMUNDONGOS MACHOS E FÊMEAS

Na figura 21 encontramos as correlações referentes ao peso corporal e a velocidade máxima no teste de esforço incremental de camundongos fêmeas (Figura A) e machos (Figura B). Os dados obtidos são referentes à uma regressão linear de pontos formados pela variação do peso corporal (Peso final – Peso basal) e pela capacidade cardiorrespiratória, verificada através da velocidade máxima atingida no teste de esforço incremental, obtidas por cada animal e nos indicam a equação da reta e o R referente. Além disso, nas figuras também são indicados o P referente ao coeficiente de *Pearson*. A análise nos possibilitou inferir que parece haver uma correlação inversamente proporcional entre os dois fatores analisados, em que animais com menor peso corporal apresentaram maior capacidade cardiorrespiratória no teste de esforço incremental. Por fim, na figura 22 avaliamos a correlação entre a variação do peso corporal dos animais exercitados com o a capacidade cardiorrespiratória no teste de esforço incremental através da velocidade máxima em cada animais. A análise nos deferiu que não houve correlação entre as variáveis analisadas.

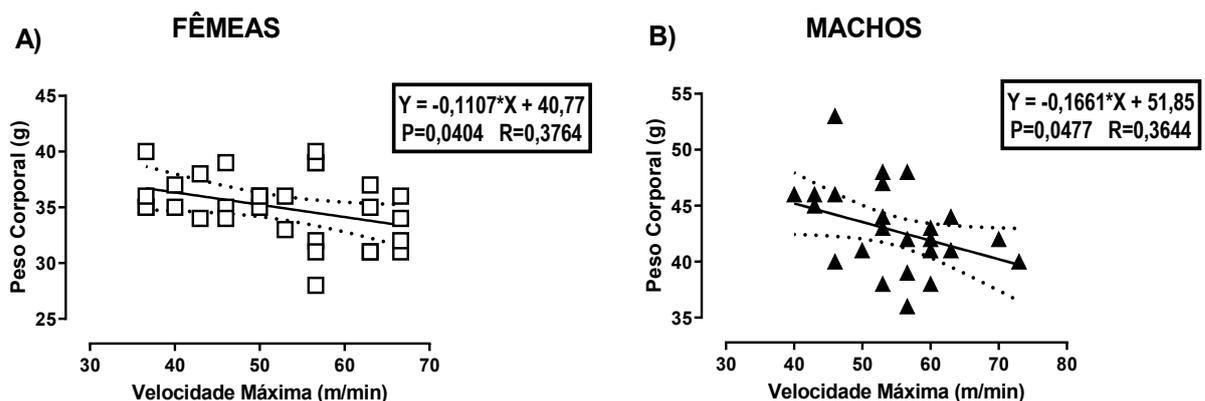


Figura 21: Correlação entre o peso corporal e velocidade máxima no teste de esforço incremental de camundongos machos e fêmeas exercitados. A) Correlação entre peso corporal e velocidade máxima de camundongos fêmeas; B) Correlação entre peso corporal e velocidade máxima de camundongos machos. Regressão linear seguida de coeficiente de correlação de *Pearson*.

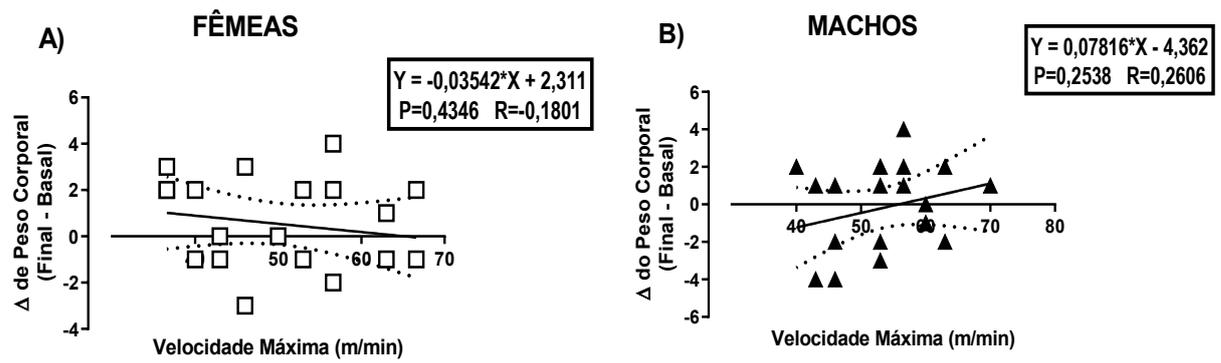


Figura 22: Correlação entre a variação do peso corporal e a velocidade máxima no teste de esforço incremental de camundongos machos e fêmeas exercitados. A) Correlação entre a variação de peso corporal e velocidade máxima de camundongos fêmeas; B) Correlação entre a variação de peso corporal e velocidade máxima de camundongos machos. Regressão linear seguida de coeficiente de correlação de Pearson.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo verificou os possíveis benefícios do exercício físico aeróbico em camundongos de ambos os sexos mantidos em condições laboratoriais. Embora a literatura científica apresente um robusto conjunto de dados científicos em relação aos efeitos do exercício físico aeróbico no enfrentamento e profilaxia de doenças, existe uma escassez de correlatos científicos em relação aos efeitos do exercício físico aeróbico em indivíduos sem condições patológicas ou mesmo em animais sem estarem expostos a modelos experimentais de doenças. Salientamos, também, a importância de correlacionar o perfil sensório-emocional-cognitivo em avaliações comportamentais e os efeitos do exercício físico aeróbico sobre esse perfil. Outro ponto enfatizado em nosso trabalho foi a necessidade de compreendermos as distinções nos padrões sensório-emocional-cognitivo em relação ao sexo.

Inicialmente, para garantirmos que o nosso protocolo experimental de exercício físico aeróbico não diferisse quanto à intensidade entre os sexos, realizamos um teste de esforço incremental em esteira rolante elétrica. A partir desses resultados, comprovamos que o desempenho físico foi semelhante entre os sexos. Segundo o *ACSM's Guidelines* (2018), os benefícios do exercício físico são proporcionais à intensidade, dependendo de um esforço acima do basal para promover alterações adaptativas no metabolismo do indivíduo e, por conseguinte, promover a saúde física e mental. A partir destes resultados nós empreendemos um protocolo experimental de exercício físico aeróbico em que a intensidade e o volume foram similares para ambos os sexos. Esse protocolo experimental de exercício físico empregado no presente estudo foi padronizado por nosso grupo de pesquisa em um estudo prévio (Bobinski et al., 2011). Neste protocolo de exercício físico aeróbico a intensidade empregada é baixa à moderada, desde que Bobinski e colaboradores (2011) demonstraram que os camundongos submetidos ao mesmo protocolo experimental não alteraram os níveis sanguíneos de lactato. Embora de baixa intensidade, Bobinski e colaboradores (2011) previamente reportaram efeitos robustos deste protocolo de exercício físico na nocicepção do tipo neuropática induzida por esmagamento do nervo isquiático.

Em nosso estudo, todos os animais tiveram seus pesos corporais mensurados semanalmente em quatro momentos distintos: primeiro momento - peso corporal basal (antes de iniciar qualquer manipulação); segundo momento - peso corporal após uma semana de ambientação na esteira; terceiro momento - peso corporal após uma

semana de exercício físico ou condição controle; quarto e último momento - peso corporal após duas semanas de exercício físico ou condição controle. Dessa forma, conseguimos acompanhar as possíveis alterações de peso corporal dos animais no decorrer de quatro semanas. Neste sentido, a literatura científica reporta extensivamente que a linhagem de camundongos *Swiss* (assim como algumas outras linhagens) ganha peso corporal progressivamente ao longo da vida (Antoch et al., 2017; Inglis et al., 2019; Neves, Filho e Menezes, 2013). Em nosso estudo, os animais fêmeas apresentaram um peso corporal menor do que os machos em todo o protocolo experimental. Esses dados estão em acordo com os estudos de Inglis (2019) e McMullan (2016) e colaboradores e de Neves, Filho e Menezes (2013), que acompanharam diferentes linhagens de camundongos de ambos os sexos.

Estudos na literatura científica demonstram que o exercício físico é eficaz no controle do peso corporal, bem como na redução do peso em modelos de obesidade (Swift et al., 2018; Hunter et al., 2015; Obert et al., 2017; Stoner et al., 2016; Mayer et al., 1954). Nossos resultados também reportam que o protocolo de exercício físico proposto foi eficaz no controle e manutenção do peso corporal dos animais (machos e fêmeas) prevenindo o ganho de peso corporal dos mesmos. Em consonância com nossos resultados, McMullan e colaboradores (2016) identificaram que a atividade física na roda de corrida voluntária também preveniu o ganho de peso corporal tanto em camundongos C57BL/6 machos quanto em fêmeas. Apesar de existirem resultados controversos (devido a distintos protocolos, volume e intensidade do treinamento, populações, dentre outros fatores), o exercício físico aeróbico também parece auxiliar na manutenção e perda de peso corporal em humanos (Donnelly et al., 2003; Doucet et al., 1999; Frey-Hewitt, 1990). Além disso, estudos demonstram que o balanço energético também difere entre homens e mulheres. Usando o exercício físico aeróbico regular e de moderada intensidade (20 a 45 minutos por seis meses e 45 minutos por 10 meses adicionais) como estratégia na redução de peso corporal, homens perdem mais peso que mulheres, com efeito idêntico observado em roedores (Donnelly et al., 2003; Oscai, Mole e Holloszy, 1971).

Nossos resultados também demonstram que o consumo de ração é similar entre machos e fêmeas. Esses dados são reforçados por outros estudos na literatura que também não encontraram distinções no consumo de ração entre machos e fêmeas (Rowland, Cervantez e Robertson, 2017). Entretanto, Buchan e colaboradores (2018) demonstraram que camundongos C57BL/6 machos consomem mais ração que

as fêmeas e, conseqüentemente, ganham mais peso corporal. Um estudo observou que não existe diferença estatística nos hormônios do apetite (PYY3-36, grelina acilada, insulina) e nas avaliações do apetite (fome, satisfação, saciedade) entre homens e mulheres em repouso (Hagobian et al., 2013). Entretanto, neste mesmo estudo foi reportado que o consumo total de energia em homens foi significativamente maior em comparação com as mulheres.

Além disso, nossos resultados também reportam que o protocolo de exercício físico empregado aumentou o consumo de ração de camundongos machos, mas não de fêmeas, em relação aos respectivos grupos controles. Similar aos nossos resultados, Bunner e colaboradores (2020) identificaram que camundongos machos adultos C57BL/6 após uma única sessão de exercício físico de média intensidade em esteira consumiram mais ração do que os não exercitados. Já pesquisas conduzidas em camundongos submetidos a protocolos de atividade física na roda de corrida voluntária identificaram resultados controversos, em que não houve diferenças no consumo de ração entre animais expostos a roda de corrida voluntária em relação aos respectivos animais controles (Copes et al., 2015; Otsuka et al., 2015). Entretanto, Dallagnol e colaboradores (2016) demonstraram que o programa de oito semanas de atividade física em roda de corrida voluntária preveniu o ganho de peso corporal de camundongos machos C57BL/6 adultos mantidos em condições laboratoriais, apesar de o grupo exercitado ter consumido significativamente mais ração que o grupo controle. Além disso, Rowland, Cervantez e Robertson (2017) identificaram que camundongos machos e fêmeas expostos a um protocolo de atividade física em roda de corrida consumiram mais ração que os animais controles. Neste mesmo estudo, os autores demonstraram que camundongos machos expostos a roda de corrida voluntária consomem mais ração que camundongos fêmeas submetidos ao mesmo protocolo de atividade física. Digno de nota, Hagobian e colaboradores (2013) avaliaram a ingestão de energia total e relativa *ad libitum* (ingestão de energia menos o gasto energético relacionado ao exercício físico) em uma refeição quarenta minutos após uma sessão aguda de exercício físico em um cicloergômetro, em comparação com o grupo controle (repouso). Neste estudo não houve diferença estatística nos hormônios do apetite (PYY3-36, grelina acilada, insulina) e nas avaliações do apetite (fome, satisfação, saciedade) entre homens e mulheres exercitados (Hagobian et al., 2013). O consumo total de energia em homens foi significativamente maior em condições de exercício em comparação com as mulheres. A ingestão relativa de

energia foi significativamente menor após o exercício em comparação com o repouso em homens e mulheres.

Após verificarmos o efeito do exercício físico aeróbico no controle de peso corporal e consumo alimentar em animais de ambos os sexos, investigamos o limiar de sensibilidade nociceptiva dos animais. Os limiares de sensibilidade mecânica e térmica ao frio foram aferidos antes de iniciar qualquer intervenção nos animais e após as três semanas de protocolo de exercício físico (ou esteira parada) através da estimulação pelos monofilamentos de Von Frey (estímulo mecânico) e acetona (estímulo térmico – frio). Os estudos científicos acerca do limiar de sensibilidade mecânica reportam que mulheres relataram maior percepção à dor (mas também podem apresentar maior resiliência) comparado aos homens, para o mesmo estímulo (Keogh e Herdenfeldt, 2002; Borba et al., 2015; Palmeira, Ashmawi e Posso, 2011, Palmeira et al., 2011; Wise et al., 2002; Ramírez-Maestre e Esteve, 2014; Pennsylvania State University; Keogh, 2018; Fillingim et al., 2009; Baggio et al., 2013; Girard-Tremblay et al., 2014). Corroborando com os achados na literatura científica, nós demonstramos que camundongos fêmeas em condições laboratoriais de alocação e alimentação apresentaram um menor limiar basal de sensibilidade mecânica, comparados aos animais machos. Entretanto, Liu e colaboradores (2016) reportaram que camundongos machos e fêmeas C57BL/6 com dois meses de idade apresentaram sensibilidade semelhante no teste de Von Frey. Essas diferenças observadas podem ser atribuídas a distinção de espécies analisadas nos dois estudos, sugerindo que exista um importante componente relacionado ao dimorfismo sexual no limiar de sensibilidade mecânica em camundongos *Swiss*, mas não em C57BL/6.

Nós também observamos que os animais exercitados de ambos os sexos aumentaram o limiar de sensibilidade mecânica, necessitando de maior gramatura para responder ao teste. Digno de nota, os efeitos observados do exercício físico aeróbico na sensibilidade mecânica à estímulos não nocivos em camundongos fêmeas foram de maior magnitude do que em machos. Entretanto, Mifflin e colaboradores (2019) avaliaram o efeito analgésico da atividade física em roda de corrida voluntária (uma hora por dia durante 3 dias consecutivos) no limiar de dor em camundongos machos e fêmeas submetidos a um modelo de dor crônica secundária à encefalomielite autoimune. Este estudo evidenciou que o protocolo de atividade física promoveu analgesia apenas para camundongos fêmeas, sugerindo que os efeitos do exercício físico são sexo-específicos neste modelo experimental de dor.

Com base nestes achados, nós exploramos a sensibilidade térmica ao frio dos animais através da instilação de um único jato de 50µl de acetona na pata traseira direita de cada animal e as respostas comportamentais foram pontuadas de acordo com um escore de 0 a 4 pontos. A pontuação basal das fêmeas foi maior do que machos, sugerindo que possa haver uma distinção sexo-específica na sensibilidade térmica ao frio. Os resultados de nosso estudo estão em consonância com o estudo de Keogh e Herdenfeldt (2002) que investigaram o limiar de sensibilidade e a tolerância ao estímulo frio (1-2°C) de homens e mulheres jovens saudáveis. Neste estudo, Keogh e Herdenfeldt (2002) identificaram que o limiar e a tolerância média ao estímulo frio das mulheres eram menores que dos homens.

O protocolo de exercício físico empregado em nosso estudo também induziu a uma marcante redução nas pontuações dos grupos (machos e fêmeas) expostos a um estímulo ao frio. Resultado distinto ao nosso foi identificado por Slivicki e colaboradores (2019) quando avaliaram a sensibilidade térmica ao frio induzida pela instilação com acetona em animais submetidos ao modelo de dor neuropática induzida por quimioterapia. Nesse estudo após 16 dias de livre exposição dos animais à roda de corrida voluntária, somente os animais submetidos ao modelo de dor neuropática reduziram a sensibilidade ao frio (Slivicki et al., 2019). Digno de nota, os animais não expostos ao modelo de dor neuropática e submetidos à roda de corrida voluntária não apresentaram distinções na sensibilidade ao frio (Slivicki et al., 2019).

Nosso estudo buscou compreender também o papel do dimorfismo sexual e/ou exercício físico na execução de tarefas de aprendizagem e memória. Digno de nota, enquanto a aprendizagem envolve a habilidade de executar uma determinada tarefa baseada em um treinamento prévio, a memória corresponde ao processo de armazenamento e manutenção do aprendizado, estando disponível para evocações futuras (Squire, 1998; Squire, 2004). A formação da memória passa por três fases iniciais, sendo elas a aquisição, consolidação/armazenamento e evocação (Izquierdo I, 2011). Após armazenada, a memória pode ser naturalmente extinta, caracterizando uma nova aprendizagem. Com o intuito de avaliar a memória espacial, nós utilizamos o teste de reconhecimento de objetos. Esse teste se vale do paradigma comportamental exploratório de roedores em que se avalia a preferência inerente do animal de explorar o objeto desconhecido (“novo”) em detrimento do objeto familiar. Inicialmente, nossos resultados demonstraram que todos os grupos experimentais aprenderam a tarefa, apresentando índice discriminatório positivo. Nossos resultados

revelaram também que a memória espacial dos camundongos é similar entre machos e fêmeas. Semelhante aos nossos resultados, Karlsson e colaboradores (2015) demonstraram que o índice discriminativo no teste de reconhecimento de objetos é idêntico entre camundongos machos e fêmeas da linhagem C57BL/6. Frick e colaboradores (1999) também sugeriram que a memória espacial é semelhante entre camundongos machos e fêmeas. Vale ressaltar que Chari et al. (2020) reportou que a memória na tarefa de reconhecimento de objetos é semelhante entre os sexos, independentemente da fase do ciclo estral em que a fêmea esteja (Chari et al., 2020). No entanto, diversos outros estudos relatam diferenças entre os sexos em relação ao aprendizado em tarefas de reconhecimento de objeto e memória espacial (Voyer, Voyer e Saint-Aubin, 2017; Eals e Silverman, 1994; Silverman e Eals, 1992; Levy, Astur e Frick, 2005; McBurney et al., 1997). Por exemplo, Voyer, Voyer e Saint-Aubin (2017) identificaram, através de meta-análise, que animais fêmeas apresentam melhor memória espacial que animais machos, principalmente em localizar objetos. Além disso, Silverman e Eals (1992) revisaram sistematicamente estudos científicos e reportaram que mulheres apresentavam melhor desempenho em tarefas que avaliam à memória espacial que homens, sendo que este contexto também pode ser aplicável à roedores. Levy, Astur e Frick (2005) também demonstraram que mulheres apresentam melhor memória espacial e declarativa que os homens. Os achados ao longo dos anos acerca do dimorfismo sexual na memória espacial são muito controversos, possivelmente devido aos protocolos e de como os estudos foram conduzidos.

A literatura científica apresenta diversos estudos robustos acerca dos efeitos do exercício físico no processo de aprendizado e memória tanto em modelos animais quanto em ensaios clínicos. Assim, o papel do exercício físico na prevenção de declínio cognitivo e melhora na memória está bem consolidado e estabelecido (Michael et al., 2012; Smith et al., 2016; Wu, Luna e Hen, 2015; Hwang et al., 2016; Kennard e Woodruff-Pak, 2012; Morris et al., 2017; Moriya, Aoki e Sakatani, 2016; Li et al., 2019). Por exemplo, Chin e colaboradores (2015) identificaram melhora no desempenho cognitivo de pacientes com traumatismo cranioencefálico submetidos ao programa de 12 semanas de exercício aeróbico vigoroso. No presente estudo, o exercício físico em esteira aumentou o índice cognitivo dos animais (machos e fêmeas) no teste de reconhecimento de objetos, comparado aos animais controles, sugerindo que o exercício físico aeróbico melhorou a memória espacial dos animais.

Corroborando com nossos resultados, Bolz, Heigle e Bischofberger (2015) reportaram que camundongos machos C57BL/6 adultos com livre exposição à roda de corrida voluntária melhoraram o índice discriminativo no teste de reconhecimento de objetos, comparado aos animais controles (Hopkins e Bucci, 2010; Bechara e Kelly, 2013). Além disso, Kim e colaboradores (2019) identificaram que camundongos velhos submetidos ao exercício físico aeróbico de baixa intensidade aumentaram a preferência pelo objeto não-familiar no teste de reconhecimento de objetos. Hwang e colaboradores (2016) também identificaram que 7 semanas de exercício físico aeróbico em esteira em uma velocidade de 8m/min, durante 30 minutos/dia, melhorou a memória de camundongos C57BL/6 machos comparados aos animais controles, corroborando com nossos resultados.

Outro teste empregado em nosso estudo para mensurar a memória dos animais foi o teste de esQUIVA INIBITÓRIA DE DESCIDA DO TIPO *step down*. O teste de esQUIVA INIBITÓRIA DE DESCIDA DO TIPO *step down* avalia a memória associativa baseada no condicionamento aversivo. Em uma compreensão histórica, no século passado, muitos aparelhos e protocolos para estudar o aprendizado e a memória foram criados. Um desses dispositivos desenvolvidos por Thorndike (1898) consistia em pequenas caixas ou "caixas de problemas". No final dos anos 1930, a tarefa era realizada com uma caixa contendo uma alavanca e um fornecedor de alimentos. Nesse dispositivo (caixa de Skinner), o roedor tinha que aprender a ter acesso ao alimento pressionando a alavanca (Skinner 1938). Mais tarde, Hudson (1950) apresentou um novo protocolo de ensaio único chamado tarefa de prevenção inibitória. Na década de 1960, Jarvik e Kopp (1967) modificaram a tarefa de prevenção inibitória e construíram um novo aparelho contendo 2 compartimentos, uma pequena câmara iluminada conectada à uma câmara escura maior, onde o animal recebia um choque ao entrar no compartimento escuro. Posteriormente, o protocolo foi modificado várias vezes. Essas mudanças resultaram em um protocolo bem estabelecido de tarefa de esQUIVA INIBITÓRIA (PASSIVA) DE DESCIDA DO TIPO *step down*. No protocolo utilizado no presente estudo, na sessão de treinamento, os animais foram individualmente condicionados a associar a descida da plataforma com as quatro patas ao choque nas patas. Nos dias dos testes, nós verificamos a latência do animal para descer da plataforma e, assim, monitoramos a memória de longo prazo e a capacidade de manutenção da mesma.

Nossos resultados apontam que em 24h após o treino no teste de esQUIVA INIBITÓRIA PASSIVA DE DESCIDA DO TIPO *step down*, os animais de todos os grupos

experimentais associaram a descida da plataforma ao choque nas patas, apresentando significativo aumento na latência para descer da plataforma. Esses resultados sugerem que o aprendizado 24 horas após o evento aversivo foi similar entre os sexos. Na sequência do experimento, todos os animais foram reexpostos ao ambiente condicionado aversivo (1 vez por semana, durante 4 semanas). Em nosso estudo as fêmeas mantiveram o aprendizado na tarefa de esquiva inibitória de descida do tipo *step down* por menos tempo que os machos. Nesse sentido, Gresack e colaboradores (2009) demonstraram que possivelmente exista uma ativação diferencial de cascatas de sinalização celular correlacionada com a aprendizagem em testes de medo contextual entre machos e fêmeas, sugerindo uma melhor performance na tarefa de aprendizagem em machos. Corroborando com nossos achados, alguns autores ainda afirmam que o dimorfismo sexual na resposta ao estresse do choque facilita a aquisição da memória em animais machos, mas prejudica em animais fêmeas (Bowman et al., 2009; Hwang et al., 2010; Xu et al., 2013). Xu e colaboradores (2013) demonstraram que camundongos *Swiss* fêmeas apresentam menor tempo de latência para descer da plataforma comparado aos camundongos machos, no teste de esquiva inibitória de descida do tipo *step down*.

Alguns estudos associam a melhor performance de machos em relação a fêmeas na tarefa de esquiva inibitória de descida do tipo *step down* devido ao padrão dos hormônios sexuais. Por exemplo, estudos demonstram resultados conflituosos acerca do ciclo estral em fêmeas no aprendizado à tarefa de esquiva inibitória de descida do tipo *step down* ou medo condicionado ao contexto (Cushman et al., 2006; Gupta et al., 2001). Cushman e colaboradores (2006) relataram que fêmeas durante a fase proestro (fase do ciclo estral correlacionada com altos níveis de estrogênio) apresentam menos tempo de congelamento (*freezing*) no teste de medo condicionado ao contexto comparado às fêmeas que se encontram na fase estro (fase do ciclo estral marcada por baixos níveis de estrogênio), sugerindo que altos níveis de estrogênio prejudicam a retenção da memória. Já Gupta e colaboradores (2001) sugerem que não há diferenças quanto à retenção da memória do tipo medo contextual entre ratas controle e ovariectomizadas. Assim, mais estudos devem ser conduzidos para uma maior compreensão dos efeitos dos hormônios sexuais na aprendizagem de tarefas correlacionadas à memória aversiva.

Os grupos experimentais (machos e fêmeas) que realizaram o programa de exercício físico aeróbico mantiveram o aprendizado por mais tempo que os grupos

controles no teste de esquiva inibitória de descida do tipo *step down*, sugerindo que o protocolo de exercício físico proposto foi capaz de promover maior capacidade de reconsolidação da memória comparado aos animais não exercitados. Estes resultados estão em consonância com os resultados obtidos por Hwang e colaboradores (2016), em que foi demonstrado que 7 semanas de exercício físico aeróbico em esteira numa velocidade de 8m/min, durante 30 minutos/dia, melhorou a memória de camundongos C57BL/6 machos comparados aos animais controles.

O exercício físico também tem sido amplamente usado na literatura com uma abordagem terapêutica para tratar transtornos emocionais e comportamentais, tais como transtornos psiquiátricos relacionados ao estresse (Mul et al., 2018; Lai et al., 2006). Uma de nossas propostas foi avaliar se o protocolo de exercício físico proposto teria efeito sobre as estratégias de enfrentamento dos animais aos eventos estressores em camundongos adultos mantidos em condições laboratoriais. Para isso utilizamos tarefas comportamentais que desafiam o animal a enfrentar locais abertos e elevados e situações desconfortáveis e inescapáveis. Os testes utilizados para avaliar a resposta ativa de enfrentamento dos animais foram os testes de campo aberto e de labirinto em cruz elevado, onde os animais foram confrontados com duas situações distintas: o comportamento exploratório inerente à espécie e a aversão natural a ambientes abertos e/ou elevados, respectivamente.

Nossos resultados obtidos de animais expostos ao teste do campo aberto revelaram que apenas os camundongos machos exercitados permaneceram mais tempo no centro do que na periferia do aparato (comportamento que sugere efeito tipo-ansiolítico do exercício físico). Estes incríveis achados sugerem que o exercício físico interfere de forma distinta no comportamento dos animais expostos ao teste do campo aberto de forma sexo-específica, desde que não foram observadas quaisquer alterações no tempo de exploração do centro do aparato em fêmeas exercitadas, em relação ao respectivo grupo controle.

Ao avaliarmos a atividade locomotora dos animais através da mensuração do número de cruzamentos no teste de campo aberto, nós observamos que não houve diferença entre animais controles e exercitados, porém, as fêmeas de ambos os grupos apresentaram maior atividade locomotora comparado aos machos. Uma possibilidade que possa estar prejudicando a visualização de um aumento na exploração do centro do campo aberto por camundongos fêmeas exercitadas pode estar associado ao aumento na ambulação total de animais fêmeas neste teste.

Corroborando com nossos resultados, alguns estudos revelaram que ratos Wistar fêmeas apresentaram maior atividade locomotora que machos expostos ao teste de campo aberto (Belviranli et al., 2012; Blizard, Lippman e Chen, 1975). Karlsson e colaboradores (2015) também identificaram em sua pesquisa que camundongos C57BL/6 fêmeas apresentaram maior atividade locomotora (maior número de cruzamentos) que camundongos machos no teste de campo aberto.

Subsequentemente, nós avaliamos o comportamento tipo-ansioso/ tipo-ansiolítico em animais submetidos ao teste de labirinto em cruz elevado. Em um primeiro momento, nós observamos que camundongos machos apresentam maior resposta de enfrentamento ao comportamento ansioso em relação aos camundongos fêmeas, desde que as fêmeas permaneceram menos tempo nos braços abertos que os machos (indicando que fêmeas são mais ansiosas que os machos). Digno de nota, An e colaboradores (2011) avaliaram o comportamento tipo ansioso/tipo-ansiolítico em duas linhagens de camundongos de ambos os sexos: C57BL/6 e BALB/c, no teste de labirinto em cruz elevado. Os autores reportaram que camundongos C57BL/6 fêmeas permaneceram menos tempo nos braços abertos do aparato que os camundongos machos. Neste mesmo estudo, os camundongos da linhagem BALB/c não apresentaram distinção entre os sexos no comportamento tipo-ansioso/tipo-ansiolítico no teste de labirinto em cruz elevado (An et al., 2011). Corroborando com estes resultados, Dugandzic, Ratko e Habek (2019) sugeriram que camundongos C57BL/6 machos e fêmeas apresentam comportamentos distintos no teste de labirinto em cruz elevado (Rilett et al., 2015). Os autores reportaram que as fêmeas no estado alimentado apresentaram mais ansiedade que os machos, permanecendo menos tempo nos braços abertos do labirinto em cruz elevado. Mas em condições de jejum, as fêmeas apresentaram menos ansiedade que os camundongos machos, permanecendo mais tempo nos braços abertos do labirinto. Já Frick e colaboradores (1999) não encontraram diferenças entre camundongos machos e fêmeas quanto ao tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em cruz elevado. De forma semelhante, Inglis e colaboradores (2019) também concluíram em sua pesquisa que camundongos machos e fêmeas C57BL/6 não diferem quanto ao tempo de permanência nos braços abertos do aparato. A partir desses achados na literatura científica, nós sugerimos que para a linhagem *Swiss*, machos e fêmeas possam apresentar comportamentos distintos frente ao estresse, em que fêmeas exibem maior comportamento tipo-ansioso que machos (Holmes et al., 2000).

Embora não tenhamos observado diferenças no tempo de permanência no braço aberto no teste do labirinto em cruz elevado em camundongos machos exercitados, em relação ao seu respectivo grupo controle, nós demonstramos que houve um aumento da permanência nos braços abertos de fêmeas exercitadas, comparado às fêmeas controles. Sabendo que machos e fêmeas respondem de forma diferente ao mesmo agente estressor, sugerimos que o protocolo de exercício físico empregado em nosso estudo gere distintas adaptações em relação ao comportamento tipo-ansioso entre machos e fêmeas. Digno de nota, Rogers e colaboradores (2016) utilizaram a roda de corrida voluntária em camundongos C57BL/6 e encontraram uma dissociação entre os efeitos da atividade física na cognição e ansiedade dos animais, verificando que o modelo de atividade física empregado foi eficaz em promover uma melhora na memória espacial no teste de labirinto aquático, mas não alterou o perfil de ansiedade no teste de labirinto em cruz elevado.

No teste do labirinto em cruz elevado nós mensuramos também o tempo que cada animal destinou à avaliação de risco, comportamento sugestivo de comportamento tipo-ansioso, e assim observamos que as fêmeas permaneceram menos tempo avaliando o risco nos braços abertos comparado aos machos. Apesar dessa diferença entre os sexos, o exercício físico aeróbico foi suficiente para promover efeitos do tipo ansiolíticos em camundongos machos e fêmeas mantidos neste teste, desde que o exercício físico reduziu significativamente o tempo de avaliação de risco dos animais (machos e fêmeas), comparado aos respectivos controles.

No presente estudo, nós utilizamos o teste de suspensão pela cauda para avaliar a resiliência dos animais (respostas ativas de enfrentamento), pois o teste expõe os animais a uma situação de desespero comportamental inescapável e avalia o comportamento tipo-depressivo/ estratégias ativas e passivas de enfrentamento (Fu et al., 2016; Serchov et al., 2019; Gao et al., 2017; Calpe-López et al., 2020; Su et al., 2016; Pujante-Gil, Manzanedo e Arenas, 2021; Mango et al., 2019; Wang et al., 2021). Nossos resultados reportaram que todos os animais apresentaram tentativa de escape da situação aversiva através de respostas ativas de enfrentamento. Nós não observamos distinções entre os sexos no tempo de imobilidade dos camundongos. Similar aos nossos resultados, Won e colaboradores (2020) demonstraram que o tempo total de imobilidade no teste de suspensão pela cauda é similar entre camundongos machos e fêmeas (Won et al., 2020). Todavia, os animais (machos e fêmeas) que realizaram o programa de exercício físico apresentaram menor tempo de

imobilidade comparado aos respectivos grupos controles, sugerindo que o exercício físico aeróbico promoveu uma maior resiliência (Mul et al., 2018). Esse aumento na tentativa de escape no teste de suspensão pela cauda pode ser resultado de um aumento da atividade locomotora dos animais, pois estratégias que aumentam a atividade locomotora (como por exemplo a cafeína ou a cocaína) podem alterar a resposta ativa de mobilidade dos animais neste teste. Entretanto, em nosso estudo, como reportado anteriormente, o número de cruzamentos no teste de campo aberto dos animais exercitados não diferiu dos animais controles. Nossos resultados indicam que o efeito antidepressivo ou de resiliência ao estresse inescapável no teste de suspensão pela cauda é específico, desde que não constatamos alteração na atividade locomotora dos animais exercitados, comparado com os respectivos grupos controles.

Nossos resultados em relação a resiliência dos animais exercitados frente a uma situação de estresse agudo inescapável estão em consonância com o estudo de Dallagnol e colaboradores (2017). Neste estudo os autores demonstraram que a atividade física na roda de corrida voluntária, por um período de oito semanas, foi suficiente em induzir comportamentos tipo-antidepressivo e ansiolítico em camundongos C57BL/6 adultos e velhos (mantidos em condições laboratoriais) nos testes de suspensão pela cauda e teste de campo aberto, respectivamente.

No presente estudo além de analisarmos os componentes comportamentais de forma isolada, nós também proporcionamos uma análise integrada dos comportamentos afetados pelo dimorfismo sexual e/ou exercício físico. Nossos resultados de correlação entre as variáveis comportamentais nos testes analisados pioneiramente mostram que os comportamentos em quatro esferas distintas (mecanosensibilidade no teste de Von Frey; memória à um evento aversivo no teste de esquiva inibitória de descida do tipo *step down*; avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado; e desespero comportamental no teste de suspensão pela cauda) estão completamente interconectados e dependentes.

Neste sentido, quando agrupamos os resultados comportamentais de todos os animais para realizar uma análise de correlação global, verificamos que as correlações mais fortes foram encontradas entre as variáveis: resiliência e memória à um estímulo aversivo; e resiliência e avaliação de risco. No entanto, a correlação entre as variáveis sensibilidade mecânica e ansiedade (avaliação de risco) foram extremamente fracas. Pelos dados de correlação das variáveis comportamentais dos

animais sugerimos que possa existir uma correlação entre o perfil de resiliência dos animais e a memória aversiva na tarefa de esquiva inibitória de descida do tipo step down. Além disso, estes resultados reforçam também que a avaliação de risco, bem como a mobilidade no teste de suspensão pela cauda possam ser respostas etológicas ativas de enfrentamento ao estresse, desde que as duas variáveis apresentaram uma forte correlação positiva.

Nós também observamos algumas alterações na força de correlação dos parâmetros comportamentais analisados quando agrupamos os resultados comportamentais dos animais por sexo, independente de terem ou não realizado o protocolo de exercício físico aeróbico. As análises de correlação obtidas dos resultados dos testes comportamentais em machos demonstraram correlações muito fortes para as variáveis: memória à um estímulo aversivo e resiliência; memória à um estímulo aversivo e ansiedade (avaliação de risco); e resiliência e avaliação de risco (ansiedade). Além disso, as avaliações de correlações entre os parâmetros comportamentais obtidos de camundongos machos reportaram uma força de correlação moderada entre sensibilidade mecânica e memória à um estímulo aversivo; sensibilidade mecânica e avaliação de risco; e sensibilidade mecânica e resiliência. Já as fêmeas apresentaram correlação extremamente forte para as variáveis: resiliência e avaliação de risco; e sensibilidade mecânica e memória à um estímulo aversivo. Ainda, as análises de correlação entre os comportamentos registrados de animais fêmeas reportam que as correlações foram moderadas para as variáveis: resiliência e memória à um estímulo aversivo; avaliação de risco (ansiedade) e memória à um estímulo aversivo; sensibilidade mecânica e resiliência; e sensibilidade mecânica e avaliação de risco (ansiedade). Diante da força das correlações (muito forte ou moderada) dos resultados comportamentais globais e/ou divididos por sexo concluímos que exista uma forte correlação entre as variáveis comportamentais analisadas e assim ressaltamos a importância de se compreender estes fatores de forma integrada na análise de comportamentos de roedores.

Os dados comportamentais obtidos dos grupos exercitados, independente do fator sexo, exibiram correlações com forças moderadas à pobres. Supomos que o dimorfismo sexual possa ter influenciado nos resultados obtidos de animais exercitados, desde que as correlações que avaliaram os resultados comportamentais de animais dos grupos exercitados machos e dos grupos exercitados fêmeas (isoladamente) apresentaram mais forças para um grupo que para o outro. Digno de

nota, os camundongos fêmeas exercitados apresentaram respostas comportamentais correlacionáveis com coeficiente de correlação sendo muito forte para todas as análises. Esses resultados, sugerem que possa existir um padrão de correlação entre as variáveis comportamentais analisadas de forma sexo-específica.

Nossos resultados de correlação sugerem também que a performance dos animais no teste de sensibilidade mecânica induzida pelo estímulo com os monofilamentos de Von Frey pode sofrer impacto direto do perfil de ansiedade e de resiliência dos animais. Digno de nota, um fator crucial para a modulação da percepção de dor induzida é a influência de elementos emocionais e cognitivos nas respostas ao estresse e no processamento da dor, os quais determinam uma resposta ao estímulo doloroso. A experiência subjetiva da dor em humanos envolve componentes sensorial-discriminativos, motivacionais, afetivos e cognitivos. Se um ser humano sujeito a estresse exibirá analgesia ou hiperalgesia é relativamente subjetivo em comparação com a experiência de animais e depende dos efeitos psicológicos que o estressor exerce sobre as emoções do indivíduo. A emoção modula a dor por meio de uma interação de valência (agradável-desagradável) e excitação (calmo-excitado) (Rhudy e Williams, 2005). A interação entre valência e excitação determina a direcionalidade do estressor na resposta à dor. Uma emoção com valência negativa e excitação de baixa a moderada intensidade evoca ansiedade e aumenta a dor, enquanto uma emoção com alta excitação, como o medo, reduz a dor (Rhudy e Meagher, 2000). Por outro lado, uma emoção positiva de grande magnitude sempre reduz a dor, desde que a excitação mínima seja alcançada. No entanto, um estudo reportou que a sensibilidade da dor a estímulos mecânicos ou elétricos não foi significativamente alterada em resposta à tarefa de estresse agudo em indivíduos saudáveis (Tarefa de adição em série auditiva com ritmo) (Dawson et al., 2020).

Nós também verificamos a correlação da latência para descer da plataforma no teste de esquiva inibitória de descida do tipo step down com outros comportamentos pelos quais os animais foram submetidos. O fator de correlação entre a latência para descer na plataforma no teste de esquiva inibitória e o comportamento de avaliação de risco no labirinto em cruz elevado foi fraco. Já o fator de correlação entre a latência para descer na plataforma no teste de esquiva inibitória e o limiar de sensibilidade mecânica foi moderado. Digno de nota, o fator de correlação entre a latência para descer na plataforma no teste de esquiva inibitória e o tempo de imobilidade foi considerado muito forte. Neste sentido, a performance no teste do tipo de esquiva

inibitória de descida do tipo *step down* que se vale da predição de memória por um estímulo aversivo de choque nas patas parece ser amplamente dependente do limiar de sensibilidade à estímulos mecânicos, e do perfil de resiliência, mas não do componente ansiedade.

Através de nossos resultados, nós salientamos que embora o teste de esquiva inibitória de descida do tipo *step down* apresente uma grande validade preditiva, outros componentes comportamentais devem ser considerados em relação a verificação da habilidade dos animais nesse teste. Por exemplo, se o exercício físico gera efeitos tipo-ansiolítico e antidepressivo e aumenta o limiar de sensibilidade a estímulos mecânicos, estes parecem ser cruciais para a resposta comportamental dos animais observada no teste de esquiva inibitória de descida do tipo *step down*. Neste sentido, a literatura reporta que o teste de esquiva inibitória de descida do tipo *step down* apresenta um forte componente somestésico, desde que animais que sentem menos dor apresentam menos responsividade ao estímulo aversivo neste teste em que a memória nesta tarefa se vale da sensibilidade periférica (Borba et al., 2015; Izquierdo et al., 1998b, 1999; Jafari, Zarrindast e Djahanguiri, 2006). Um exemplo da influência da sensibilidade periférica nas respostas comportamentais de memória aversiva no teste de esquiva inibitória de descida do tipo *step down* é bem documentado em estudos utilizando a administração aguda do analgésico e anestésico morfina em animais a fim de avaliar o aprendizado na tarefa de esquiva inibitória de descida do tipo *step down* (Zarrindast et al., 2006; Malekmohamadi et al., 2006; Lu et al., 2010). Camundongos tratados com morfina (5-10mg/kg) antes da sessão de treino apresentaram um comprometimento na aprendizagem no teste, sugerindo fortemente que a sensibilidade periférica tem um forte componente na habilidade dos animais aprenderem as tarefas no paradigma comportamental da esquiva inibitória de descida do tipo *step down* (Hook et al., 2017; Neelakantan, Ward e Walker, 2016; Chen et al., 2008; Zarrindast et al., 2006; Malekmohamadi et al., 2006; Lu et al., 2010). Curiosamente, nossos resultados demonstraram que embora as fêmeas apresentem uma maior sensibilidade mecânica aos monofilamentos de Von Frey, estas apresentaram uma extinção da memória aversiva mais rápido que os machos, sugerindo que as mesmas possam ter estratégias de enfrentamento do estímulo aversivo.

Embora o fator de correlação entre a latência para descer na plataforma no teste de esquiva inibitória de descida do tipo *step down* e o comportamento de

avaliação de risco no labirinto em cruz elevado foi fraco, uma outra possibilidade que possa gerar interferência na performance dos animais no teste de esquiva inibitória de descida do tipo *step down* é o componente ansiogênico (Thorndike, 1898; Skinner, 1938; Hudson, 1950; Jarvik e Kopp, 1967). Assim sendo, nós sugerimos, também, que as fêmeas tiveram uma extinção da memória aversiva mais rápido do que os animais machos por serem mais suscetíveis a eventos ansiogênicos. Quando avaliamos o aprendizado no paradigma comportamental de esquiva inibitória de descida do tipo *step down*, devemos considerar que animais machos e fêmeas produzem resposta de enfrentamento de forma diferente ao mesmo agente estressor (choque nas patas) (Moran, 2016; Shors et al., 2007). Digno de nota, o foco atencional à tarefa pode ser comprometido pelo perfil de ansiedade dos animais (Moran, 2016). Sabendo que mulheres são mais ansiosas que homens, nós sugerimos que a ansiedade experimentada no teste de esquiva inibitória de descida do tipo *step down* seja um componente que tenha influenciado na aprendizagem das fêmeas à esta tarefa, reduzindo a manutenção da memória comparado aos animais machos (Donner e Lowry, 2013; Shields et al., 2017). Conclusivamente, nossos resultados sugerem que o sexo é um componente fundamental a ser considerado na habilidade dos animais no teste de esquiva inibitória de descida do tipo *step down*.

No presente estudo, nós também verificamos a correlação do tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda com outros comportamentos pelos quais os animais foram submetidos. Os fatores de correlação entre o tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e o comportamento de avaliação de risco no labirinto em cruz elevado ou a latência para descer na plataforma no teste de esquiva inibitória foram muito fortes. Já o fator de correlação entre o tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e o limiar de sensibilidade mecânica foi moderado. Digno de nota, a redução no tempo de imobilidade observada em animais exercitados submetidos ao teste de suspensão pela cauda pode ser uma resposta comportamental dependente da memória diante à um estímulo aversivo. A redução do tempo de imobilidade induzida por antidepressivos no teste de suspensão pela cauda pode depender do componente de memória neste teste, visto que 1) fármacos com ação anticolinérgica com marcado efeito na melhora do aprendizado produzem efeito antidepressivo (Enginar et al., 2016); 2) a escopolamina, diazepam, pentobarbital (De Pablo et al. 1991) e MK-801 (Dhir e Kulkarni 2008; Kordjazy et al. 2016), que reduzem a imobilidade nos testes baseados em desespero comportamental inescapável,

induzem um comprometimento em tarefas de memória e aprendizagem (Kant et al. 1996; Harrod et al. 2001; Carballo-Marquez et al. 2007; Horisawa et al. 2011; Soma et al. 2014; Wang et al. 2015); 3) antidepressivos clássicos considerados eficazes em diminuir o desespero comportamental também produzem efeitos amnésicos (Sansone et al. 1985; Kumar e Kulkarni 1996; Naudon et al. 2007; Parra et al. 2009). Assim sendo, diversos estudos clínicos indicaram que os medicamentos antidepressivos com um componente anticolinérgico marcado são prejudiciais para o processo de memória (Curran et al. 1988; Richardson et al. 1994; Tannenbaum et al. 2012; Baune e Renger 2014).

Os nossos resultados de análise de correlação estratificados para fêmeas, demonstram que a força do fator de correlação entre o tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e o tempo de avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado é muito forte. Em machos (controle ou exercitado), a força do mesmo fator de correlação é fraca. Estes dados indicam que os comportamentos no teste de suspensão pela cauda possam estar completamente relacionados com o perfil de ansiedade de fêmeas, mas não de machos. Reforçando esses resultados, a força do fator de correlação entre o tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e o tempo de avaliação de risco no teste do labirinto em cruz elevado é muito forte para fêmeas controles ou exercitadas.

As correlações entre os resultados de avaliação de risco obtidos no teste de labirinto em cruz elevado e os resultados de outros testes comportamentais também foram analisadas em nosso estudo. Em uma visão global, a força do fator de correlação entre o comportamento de avaliação de risco no labirinto em cruz elevado e o tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda foi muito forte. Já a força dos fatores de correlação entre a avaliação de risco no labirinto em cruz elevado e a latência para descer na plataforma no teste de esquiva inibitória de descida do tipo step down ou o limiar de sensibilidade mecânica foram fracas. Ao analisar os dados estratificados, nós verificamos que os resultados comportamentais obtidos de animais machos apresentam correlação com força moderada entre a avaliação de risco no teste de labirinto em cruz elevado e todos os outros parâmetros comportamentais analisados. Em fêmeas observou-se que a força do fator de correlação entre o comportamento de avaliação de risco no labirinto em cruz elevado e o tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda foi muito forte, sugerindo que estes comportamentos possam exibir uma alta intercorrelação. Entretanto, em fêmeas os

fatores de correlação entre a avaliação de risco no labirinto em cruz elevado e a latência para descer na plataforma no teste de esquiva inibitória ou o limiar de sensibilidade mecânica foram moderados. Assim, nós sugerimos que os padrões de resiliência e ansiedade são extremamente interconectados.

O entendimento da inter-relação entre os comportamentos resilientes e o desenvolvimento de transtornos de ansiedade pode gerar uma compreensão na etiologia e desenvolvimento de tratamentos para a ansiedade baseados em estratégias de enfrentamento. Assim a resiliência aos efeitos do estresse severo pode ser caracterizada pela capacidade de evitar a supergeneralização de estímulos condicionados específicos para um contexto mais amplo (como visto no transtorno de ansiedade generalizada), armazenamento reversível de memórias emocionais e extinção facilitada (Charney, 2004). Neste sentido, as investigações dos efeitos da guerra, violência familiar, pobreza e desastres naturais sobre as crianças revelaram um padrão consistente de características individuais associadas a uma adaptação bem-sucedida. Isso inclui um bom funcionamento intelectual, autorregulação eficaz de emoções e comportamentos de apego, autoconceito positivo, otimismo, altruísmo, capacidade de converter desamparo traumático em ajuda aprendida e um estilo de enfrentamento ativo ao confrontar um estressor (Richardson, 2002; Masten e Coatsworth, 1998; Bell, 2001). Em adultos, os estudos de resiliência concentraram-se em homens em condições de trabalho estressante, como bombeiro e policial, nas quais o perigo está sempre presente e uma ação eficaz sob estresse é imprescindível. As características associadas ao alto desempenho sob estresse em adultos incluem altruísmo, compaixão e capacidade de funcionar de maneira eficaz, apesar dos altos níveis de medo (Grinker e Spiegel, 1946; Rachman e Cuk, 1992; Ruff e Korchin, 1964).

Alguns estudos apontam que os efeitos sensório-emocionais-cognitivos conferidos pelo exercício físico aeróbico apresentados no presente estudo podem ser decorrentes de modulações bioquímicas e moleculares (Agudelo et al., 2014; Belviranlı e Okudan, 2018; Yang et al., 2015; Balschun et al., 2004; Bechara e Kelly, 2013). Como por exemplo, o exercício físico parece gerar como adaptação a modulação dos sistemas de neurotransmissão serotoninérgicos e opioidérgicos no SNC e esses são amplamente conhecidos por seu papel na modulação da dor, cognição e humor dos indivíduos (Bobinski et al., 2016; Sluka et al., 2013, 2018; Koltyn, 2000; Heijnen et al., 2016; Kondo et al., 2014; Meneses e Liy-Salmeron, 2012; Baidoo et al., 2020; Browne et al., 2020; Wipfli et al., 2011). Esses sistemas de

neurotransmissão parecem modular cascatas de transdução de sinais correlacionadas com a transcrição e tradução de fatores neurotróficos, como o BDNF (Heijnen et al., 2016; Phillips, 2017). Neste sentido, o efeito do exercício físico aeróbico sobre a cognição, aprendizado e memória, humor e somestesia parecem envolver a tradução dessas proteínas da classe dos fatores de crescimento (Pietrelli et al., 2018; Yuan et al., 2015; Bobinski et al., 2016; Phillips, 2017). Recentemente, muitos outros mecanismos celulares e moleculares estão sendo propostos para os efeitos do exercício físico no sistema nervoso central e este tópico merece estudos adicionais futuros que visem elucidá-los.

Além disso, em nosso estudo foi observado uma correlação entre peso corporal dos animais e performance no teste de esforço, embora o fator de correlação tenha sido muito fraco. Isso indica que o peso corporal é um fator a ser observado e controlado ao analisarmos o comportamento dos animais em tais testes e este pode ser nas pesquisas que utilizam protocolos de exercício físico em esteira um putativo limitante a ser considerado. Um fato bem interessante é que a variação de peso corporal ao longo do protocolo experimental foi significativamente menor nos grupos exercitados, comparado aos controles. No entanto, a variação de peso corporal dos animais exercitados não apresentou correlação com a capacidade cardiorrespiratória deles no teste de esforço incremental. Pesquisas prévias têm correlacionado negativamente o índice de massa corporal (IMC), bem como a taxa de massa gorda com a capacidade cardiorrespiratória de indivíduos de ambos os sexos, sugerindo que menor IMC é preditivo de maior consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx) e melhor desempenho em testes de esforço, corroborando com nossos resultados (Mondal e Mishra, 2017; Moreira et al., 2014; Lohman et al., 2008; Arsenault et al., 2009; Ali et al., 2020).

Apesar de inicial, nossa pesquisa é pioneira em correlacionar o perfil sensório-emocional-cognitivo em modelos animais mantidos em condições laboratoriais. Sugerimos que o exercício físico aeróbico foi suficiente para demonstrar uma correlação positiva, em que o aumento do limiar de sensibilidade e o aumento da resiliência estariam atrelados à melhora cognitiva, principalmente em fêmeas.

7. CONCLUSÃO

Nossos resultados demonstraram que camundongos adultos da linhagem *Swiss* machos e fêmeas apresentaram desempenho semelhante no teste de esforço incremental em esteira rolante. De forma muito semelhante a outros mamíferos, camundongos machos possuem maior peso corporal e maior consumo alimentar comparado às fêmeas. Em nossa pesquisa nós também observamos que o consumo alimentar dos animais foi semelhante entre os sexos durante as semanas do protocolo experimental. Já nos grupos exercitados, o consumo alimentar durante o protocolo experimental foi maior em machos do que em fêmeas. Este conjunto de resultados pontua que o protocolo de exercício físico aeróbico durante duas semanas gerou importante efeito sobre a manutenção do peso corporal dos animais machos e fêmeas, apesar de camundongos machos consumirem mais ração que camundongos fêmeas, sugerindo que camundongos machos exercitados possuam um metabolismo energético distinto dos camundongos fêmeas exercitados.

Através dos testes comportamentais aplicados, verificamos que camundongos machos e fêmeas diferiram quanto algumas respostas somestésicas, emocionais e cognitivas. Por exemplo, as fêmeas apresentaram algumas respostas comportamentais distintas comparadas aos machos, como: menor limiar de sensibilidade mecânica, maior sensibilidade ao estímulo frio, menor retenção da memória em testes aversivos de esquiva inibitória de descida do tipo *step down*, maior atividade locomotora e maior resposta de avaliação de risco (Figura 24A). Digno de nota, a memória espacial e a resiliência foram semelhantes entre os sexos.

O exercício físico aeróbico gerou efeito sobre grande parte das respostas comportamentais analisadas nos animais (Figura 24B). O protocolo de exercício físico induziu a um aumento no limiar de sensibilidade térmica e mecânica em ambos os sexos ao longo das avaliações sensoriais. O exercício físico aeróbico também parece produzir efeito tipo-ansiolítico de forma sexo-específico, sem efeito observável em fêmeas expostas ao teste do campo aberto. De forma contrária, um efeito tipo-ansiolítico foi apenas observado em fêmeas quanto ao tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em cruz elevado, sugerindo que os efeitos possam estar atrelados ao tipo de estímulo ansiogênico. Além disso, o exercício físico aeróbico reduziu o tempo de avaliação de risco no teste de labirinto em cruz elevado, sugerindo um potente efeito tipo-ansiolítico para ambos os sexos. O exercício físico aeróbico

também reduziu em ambos os sexos o tempo total de imobilidade na tarefa de suspensão pela cauda, sugerindo que este estímulo induziu um comportamento de resiliência nos animais. Ainda, nas tarefas de memória aplicadas aos camundongos, o exercício físico melhorou em ambos os sexos tanto a memória espacial quanto a memória no teste de esquiwa inibitória de descida do tipo *step down*, esta última atrelada a um importante fator ansiogênico.

Sugerimos também que exista uma forte correlação entre os fatores sensoriais, emocionais e cognitivos, e que um componente pode influenciar o outro durante os testes comportamentais analisados. Sugerimos também que o exercício físico tenha efeito sobre o perfil somestésico e resiliência dos camundongos, reduzindo a ansiedade e promovendo a memória nos testes comportamentais aplicados na presente tese.

Finalmente, com base na correlação do perfil sensório-emocional-cognitivo apresentada neste trabalho, além do marcante dimorfismo sexual, esperamos que estes achados sirvam de base para novas perspectivas e direcionamentos tanto em pesquisas clínicas, quanto pré-clínicas. Compreendendo que animais machos e fêmeas, bem como homens e mulheres, possam responder de forma diferente ao mesmo estímulo sensorial e que estímulos multifatoriais podem interferir nas respostas globais dos indivíduos. Sugerimos, também, que os efeitos do exercício físico aeróbico parecem não ser completamente impactados pelo dimorfismo sexual, desde que produz vários efeitos comportamentais benéficos para animais de ambos os sexos. Sendo assim, o exercício físico aeróbico parece ser uma ferramenta eficaz para promover uma melhora no perfil sensório-emocional-cognitivo dos indivíduos (Figura 23).

Fazendo uma translação de nossos resultados aos comportamentos humanos, é de se esperar que o exercício físico aeróbico possa modular as respostas sensório-emocionais-cognitivas em indivíduos de ambos os sexos, sugerindo que homens e mulheres apresentam respostas eficientes de enfrentamento diante de um mesmo estímulo sensorial, cognitivo e emocional.

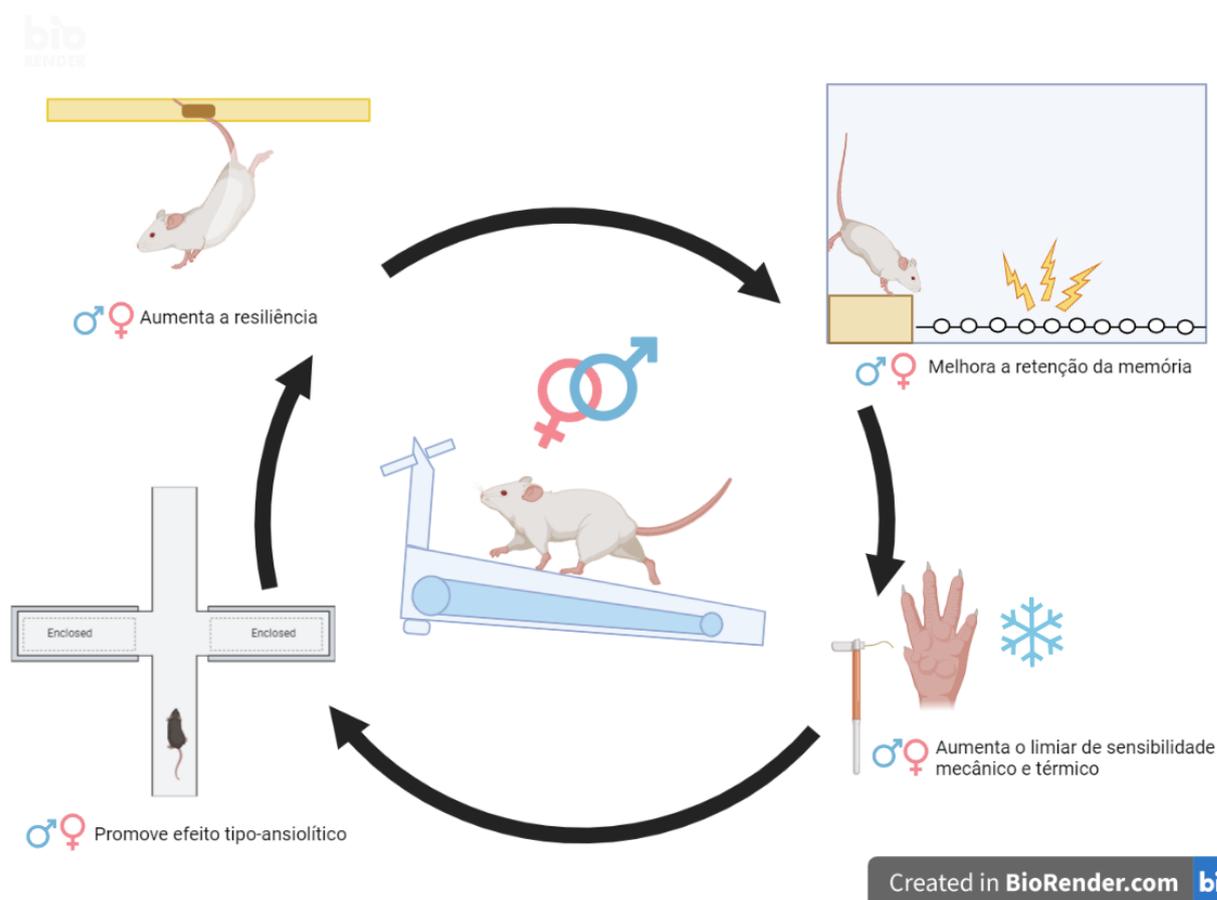


Figura 23. Resumo dos efeitos do exercício físico aeróbico sobre o perfil sensório-emocional-cognitivo de camundongos machos e fêmeas. Após duas semanas de exercício físico aeróbico os camundongos machos e as fêmeas apresentaram maior resiliência no teste de suspensão pela cauda através de respostas ativas de enfrentamento. O efeito de resiliência promovido pelo exercício físico está inversamente relacionado à avaliação de risco no teste de labirinto em cruz elevado. O exercício físico aeróbico também promoveu maior tempo de retenção da memória aversiva no teste de esquiva inibitória de descida do tipo step down, sem modificar o perfil de memória entre camundongos machos e fêmeas. Sabendo que a tarefa no teste de esquiva inibitória de descida do tipo step down envolve o componente ansiogênico e somestésico atrelado ao aprendizado, o efeito ansiolítico e sensorial promovido pelo exercício físico está diretamente correlacionado a aprendizagem neste teste comportamental. O exercício físico aeróbico também aumentou o limiar de sensibilidade mecânica dos animais, que está inversamente relacionado ao efeito tipo-ansiolítico e diretamente relacionado a resiliência, além de parecer influenciar na aprendizagem na tarefa de esquiva inibitória de descida do tipo step down.

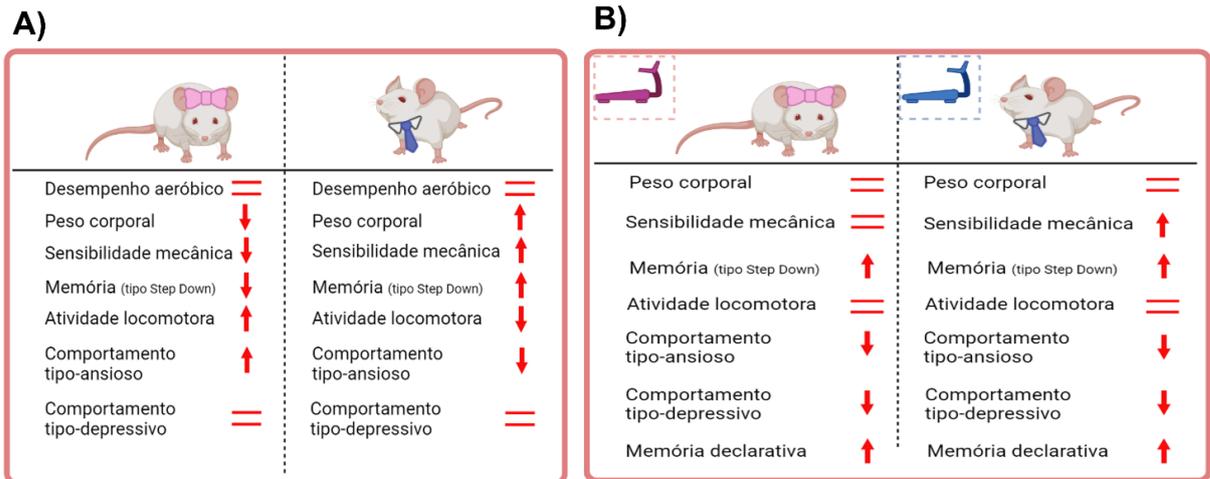


Figura 24: Dimorfismo sexual no perfil sensório-emocional-cognitivo em camundongos mantidos em condições laboratoriais. A) comparação entre camundongos machos e fêmeas controles, B) dimorfismo sexual e efeitos do exercício físico aeróbico.

8. REFERÊNCIAS

- ABREU P, LEAL-CARDOSO J e CECCATTO V. Adaptação do músculo esquelético ao exercício físico: considerações moleculares e energéticas. Rev Bras Med Esporte – Vol. 23, No 1 – 2017
- ADOLPHS R. How should neuroscience study emotions? by distinguishing emotion states, concepts, and experiences. Soc Cogn Affect Neurosci. 2017 Jan 1;12(1):24-31.
- AKOGLU H. User's guide to correlation coefficients. Turk J Emerg Med. 2018 Aug 7;18(3):91-93.
- AGUDELO L, et al. Skeletal muscle PGC-1 α 1 modulates kynurenine metabolism and mediates resilience to stress-induced depression. Cell. 2014 Sep 25;159(1):33-45.
- AHMED EI, et al. Pubertal hormones modulate the addition of new cells to sexually dimorphic brain regions. Nat Neurosci. 2008; 11:995–997.
- ALENGHAT FJ, INGBER DE. Mechanotransduction: all signals point to cytoskeleton, matrix, and integrins. Sci STKE. 2002 Feb 12;2002(119):pe6.
- ALI B, et al. Association of body mass index, cardiorespiratory fitness, and their correlates among female physiotherapy students in Nawabshah. J Pak Med Assoc. 2020 Jan;70(1):80-85.
- ALOISI AM, et al. Chronic pain therapy and hypothalamicpituitary- adrenal axis impairment. Psychoneuroendocrinology. 2011.36(7), 1032–1039.
- ALVES, JEO et al. Mecanismos fisiopatológicos da nocicepção e bases da analgesia perioperatória em pequenos animais. Acta Biomédica Brasiliensia. 2017. 8. 56. 10.18571/acbm.122.
- ANDREANO JM, CAHILL L. Sex influences on the neurobiology of learning and memory. Learn Mem. 2009 Mar 24;16(4):248-66.

- ANTOCH MP, et al. Physiological frailty index (PFI): quantitative in-life estimate of individual biological age in mice. *Aging (Albany NY)*. 2017 Mar 19;9(3):615-626.
- APKARIAN, AV, et al. Role of adult hippocampal neurogenesis in persistent pain. *PAIN*. 2016. 157(2), 418–428.
- ARCHER T, JOSEFSSON T, LINDWALL M. Effects of physical exercise on depressive symptoms and biomarkers in depression. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2014;13(10):1640-53.
- ARSENAULT BJ, et al. Body composition, cardiorespiratory fitness, and low-grade inflammation in middle-aged men and women. *Am J Cardiol*. 2009 Jul 15;104(2):240-6.
- BAGGIO G, et al. Gender medicine: a task for the third millennium. *Clin Chem Lab Med*. 2013 Apr;51(4):713-27.
- BAIDOO N, WOLTER M, LERI F. Opioid withdrawal and memory consolidation. *Neurosci Biobehav Rev*. 2020 Jul;114:16-24.
- BALSCHUN D, et al. Interleukin-6: a cytokine to forget. *FASEB J*. 2004 Nov;18(14):1788-90.
- BARTHAS F, et al. The anterior cingulate cortex is a critical hub for pain-induced depression. *Biol Psychiatry*. 2015 Feb 1;77(3):236-245.
- BASSEL-DUBY, R. E OLSON E.N. Signaling pathways in skeletal muscle remodeling. *Annu. Rev. Biochem*. 2006. Vol 75, p. 19–37.
- BECHARA, R e KELLY, A. Exercise improves object recognition memory and induces BDNF expression and cell proliferation in cognitively enriched rats. *Behavioural brain research*. 2013. May 15;245:96-100.
- BELL CC. Cultivating resiliency in youth. *J Adolesc Health*. 2001 Nov;29(5):375-81.

- BELVIRANLI M, OKUDAN N. Exercise Training Protects Against Aging-Induced Cognitive Dysfunction via Activation of the Hippocampal PGC-1 α /FNDC5/BDNF Pathway. *Neuromolecular Med.* 2018 Jul 3.
- BELVIRANLI M, et al. Age and sex affect spatial and emotional behaviors in rats: the role of repeated elevated plus maze test. *Neuroscience.* 2012; 227:1–9.
- BICKEL CS, et al. Time course of molecular responses of human skeletal muscle to acute bouts of resistance exercise. *J Appl Physiol* 2005; 98 (2): 482-8
- BLISS TV, et al. Synaptic plasticity in the anterior cingulate cortex in acute and chronic pain. *Nat Rev Neurosci.* 2016 Aug;17(8):485-96.
- BLIZARD DA, LIPPMAN HR, CHEN JJ. Sex differences in open-field behavior in the rat: the inductive and activational role of gonadal hormones. *Physiol Behav.* 1975; 14(5):601–608.
- BOBINSKI F et al. Neuroprotective and neuroregenerative effects of low intensity aerobic exercise on sciatic nerve crush injury in mice. *Neuroscience*, v. 194, p. 337-48, Oct 27 2011b.
- BOBINSKI F, et al. Role of brainstem serotonin in analgesia produced by low-intensity exercise on neuropathic pain after sciatic nerve injury in mice. *PAIN* 2015;156: p. 2595–606.
- BOBINSKI F, et al. Interleukin-4 mediates the analgesia produced by low-intensity exercise in mice with neuropathic pain. *Pain.* 2018 Mar;159(3):437-450.
- BOLZ L, HEIGELE S, BISCHOFBERGER J. Running Improves Pattern Separation during Novel Object Recognition. *Brain Plast.* 2015;1(1):129-141.
- BOOTH, FW e LEES, SJ. Physically active subjects should be the control group. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2006. 38, p. 405–406
- BORBA FILHO GL, et al. A new device for step-down inhibitory avoidance task--effects of low and high frequency in a novel device for passive inhibitory avoidance task that avoids bioimpedance variations. *PLoS One.* 2015 Feb 23;10(2):e0116000.

- BOUCHARD C, et al. On the horizon: molecular biology: a new vista for exercise physiology. In: Genetics of fitness and physical performance. Champaign (IL): Human Kinetics, 1997:p. 970-1050
- BOWMAN Re. Stress-induced changes in spatial memory are sexually differentiated and vary across the lifespan. *J Neuroendocrinol* 17:2005, p. 526–535.
- BOWMAN RE, et al. Aged rats: sex differences and responses to chronic stress. *Brain Res* 1126:2006, p.156–166.
- BOWMAN RE, et al. Sex-dependent changes in anxiety, memory, and monoamines following one week of stress. *Physiol Behav* 97:2009, p. 21–29.
- BRAGER, AJ. et al. Homeostatic effects of exercise and sleep on metabolic processes in mice with an overexpressed skeletal muscle clock. *Biochimie* 2017. 132, 161–165.
- BROWNE CA, JACOBSON ML, LUCKI I. Novel Targets to Treat Depression: Opioid-Based Therapeutics. *Harv Rev Psychiatry*. 2020 Jan/Feb;28(1):40-59.
- BRUINVELS G, et al. Sport, exercise and the menstrual cycle: where is the research? *Br J Sports Med*. 2017 Mar;51(6):487-488.
- BRUINVELS G, et al. The prevalence and impact of heavy menstrual bleeding (menorrhagia) in elite and non-elite athletes. *PLoS ONE* 2016;11: e0149881.
- BUCHAN L, et al. High-fat, high-sugar diet induces splenomegaly that is ameliorated with exercise and genistein treatment. *BMC Res Notes*. 2018 Oct 22;11(1):752.
- BUNNER W, et al. ARCAgRP/NPY Neuron Activity Is Required for Acute Exercise-Induced Food Intake in Un-Trained Mice. *Front Physiol*. 2020 May 6;11:411.
- CALPE-LÓPEZ C, et al. Behavioral Traits Associated With Resilience to the Effects of Repeated Social Defeat on Cocaine-Induced Conditioned Place Preference in Mice. *Front Behav Neurosci*. 2020 Jan 9;13:278.

- CAMERA, DM, SMILES, WJ & HAWLEY, JA. Exercise-induced skeletal muscle signaling pathways and human athletic performance. *Free Radical Biology and Medicine*, 2016. 98, 131–143.
- CASSILHAS RC, TUFIK S, DE MELLO, MT. Physical Exercise, Neuroplasticity, Spatial Learning and Memory. *Cell Mol Life Sci*. 2016. 73 (5), 975-83
- CASPERSEN CJ; POWELL KE; CHRISTENSON GM. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep*, 1985. v. 100, n. 2, p. 126-131.
- CASTREN E, RANTAMAKI T. Neurotrophins in depression and antidepressant effects *Novartis Found Symp*, 289 (2008), pp. 43-52
- CHARI T, et al. The Stage of the Estrus Cycle Is Critical for Interpretation of Female Mouse Social Interaction Behavior. *Front Behav Neurosci*. 2020 Jun 30;14:113.
- CHARNEY, D.S. Psychobiological mechanisms of resilience and vulnerability: implications for successful adaptation to extreme stress. *Am. J. Psychiatry* 2004.161, 195–216.
- CHEN K, et al. Treadmill exercise suppressed stress-induced dendritic spine elimination in mouse barrel cortex and improved working memory via BDNF/TrkB pathway. *Transl Psychiatry* 2017. 7: e1069.
- CHEN TC, et al. Differential regulation of morphine antinociceptive effects by endogenous enkephalinergic system in the forebrain of mice. *Mol Pain*. 2008 Sep 30;4:41.
- CHIN LM, et al. Improved cognitive performance following aerobic exercise training in people with traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil* 96: 2015, p. 754–759.
- COFFEY, VG e HAWLEY, JA. The molecular bases of training adaptation. *Sports Med*. 2007. 37, p. 737–763.

- COHEN, H. et al. The neuropeptide Y (NPY)-ergic system is associated with behavioral resilience to stress exposure in an animal model of post-traumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology* 2012. 37, 350–363.
- COOK, D. e KOLTYN, K. Pain and Exercise. *International Journal of Sports Psychology* 2000. 31, 256-277.
- COPES LE, et al. Effects of voluntary exercise on spontaneous physical activity and food consumption in mice: Results from an artificial selection experiment. *Physiol Behav.* 2015 Oct 1;149:86-94.
- CORDOVA, MM. et al. Further antinociceptive effects of myricitrin in chemical models of overt nociception in mice. *Neurosci. Lett.*, 2011. v. 495, n. 3, p. 173-7.
- COTMAN CW, BERCHTOLD NC, CHRISTIE LA. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci.*, 2007. 30:464–472.
- CRUCCU, G. et al. Recommendations for the clinical use of somatosensory-evoked potentials. *Clin. neurophysiol.* 2008, v. 119, n. 8, p. 1705–19.
- CRYAN JF, MOMBÉREAU C, VASSOUT A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005;29(4-5):571-625.
- CUI MY, et al. Exercise Intervention Associated With Cognitive Improvement in Alzheimer's Disease. *Neural Plast*, 2018, 11;2018:9234105
- CUSHMAN J, MADSEN S, FANSELOW M. Impairment of hippocampus-dependent learning and memory during diestrus in mice. Program 266:12 Neuroscience Meeting Planner. Atlanta, GA 2006: Society for Neuroscience.
- DAGHIGH F, et al. Swimming training modulates lung injury induced by ovariectomy in diabetic rats: involvement of inflammatory and fibrotic biomarkers. *Arch Physiol Biochem.* 2019 Dec 10:1-7.

- DALLAGNOL, Karine Mathilde Campestrini. Os Efeitos do Exercício Físico na Neuroinflamação e Neuroplasticidade do Hipocampo de Camundongos Velhos. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Santa Catarina. 2016.
- DALLAGNOL KMC, et al. Running for REST: Physical activity attenuates neuroinflammation in the hippocampus of aged mice. *Brain Behav Immun*. 2017 Mar;61:31-35. Epub 2016 Jul 29.
- DAVIDSON RJ. 2000. Affective style, psychopathology, and resilience: brain mechanisms and plasticity. *Am. Psych*. 55: 1196–1214.
- DENNIS C. Brain development: the most important sexual organ. *Nature*. 2004 Jan 29;427(6973):390-2.
- DERAKSHAN N, MICHAEL W. EYSENCK MW. Working Memory Capacity in High Trait-anxious and Repressor Groups, *Cognition and Emotion*, (1998). 12:5, 697-713,
- DEWING P, SHI T, HORVATH S, VILAIN E. Sexually dimorphic gene expression in mouse brain precedes gonadal differentiation. *Brain Res Mol Brain Res*. 2003 Oct 21;118(1-2):82-90.
- DIAS GP, et al. Behavioral profile and dorsal hippocampal cells in carioca high-conditioned freezing rats. *Behav Brain Res*. 2009 Dec 28;205(2):342-8.
- DONNELLY JE, et al. Effects of a 16-month randomized controlled exercise trial on body weight and composition in young, overweight men and women: the Midwest Exercise Trial. *Arch Intern Med*. 2003;163: 1343–50.
- DONNER NC, LOWRY CA. Sex differences in anxiety and emotional behavior. *Pflugers Arch*. 2013 May;465(5):601-26.
- DONEVAN, RH e ANDREW, GM. Plasma b- endorphin immunoreactivity during graded cycloergometry. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1987. v.19, n.3, p.229-33.

- DOUCET E, et al. Physical activity and low-fat diet: is it enough to maintain weight stability in the reduced-obese individual following weight loss by drug therapy and energy restriction? *Obes Res.* 1999; 7:323–33.
- DROSTE SK, et al. Effects of long-term voluntary exercise on the mouse hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrinology.* 2003 Jul;144(7):3012-23.
- DU J, et al. Curcumin Alleviates Chronic Pain and Improves Cognitive Impairment via Enhancing Hippocampal Neurogenesis in Sciatic Nerve Constriction Rats. *J Pain Res.* 2021 Apr 20;14:1061-1070.
- DUCLOS M, TABARIN A. Exercise and the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis. *Front Horm Res.* 2016;47:12-26.
- DUGAN EA, JERGOVA S, SAGEN J. Mutually beneficial effects of intensive exercise and GABAergic neural progenitor cell transplants in reducing neuropathic pain and spinal pathology in rats with spinal cord injury. *Exp Neurol.* 2020 Jan 18:113208.
- DUGANDZIC A, RATKO M, HABEK N. Anxiety-like behavior in female mice changes by feeding, possible effect of guanylate cyclase C. *Eur J Neurosci.* 2020 Jul;52(1):2781-2790.
- DYER AH, et al. The role of Insulin-Like Growth Factor 1 (IGF-1) in brain development, maturation and neuroplasticity. *Neuroscience.* 2016 Jun 14;325:89-99.
- EALS M; SILVERMAN I. The hunter–gatherer theory of spatial sex differences: proximate factors mediating the female advantage in recall of object arrays. *Ethol Sociobiol* 15:1994, p. 95–105.
- ECCLESTON C, CROMBEZ G. Pain demands attention: a cognitive-affective model of the interruptive function of pain. *Psychol Bull.* 1999 May;125(3):356-66.
- EGAN, B. e ZIERATH, JR. (2013). Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab.* 17, p. 162–184.

- ELLIOT, DL. et al. Resistance exercise and plasma b- endorphin/b-lipotropin immunoreactivity. *Life Sciences*, v.34, n.6, p.515-8, 1984.
- ELSENBRUCH, S, et al. Affective disturbances modulate the neural processing of visceral pain stimuli in irritable bowel syndrome: An fMRI study. *Gut* 2010. 59, 489–495.
- ETKIN A, EGNER T, KALISCH R. Emotional processing in anterior cingulate and medial prefrontal cortex. *Trends Cogn Sci*. 2011 Feb;15(2):85-93.
- EYSENCK, MW. et al. Anxiety and cognitive performance: attentional control theory. *Emotion*. 2007 May;7(2):336-53.
- EYSENCK, MW & CALVO, MG. Anxiety and performance: The processing efficiency theory. *Cognition and Emotion*, 1992. 6(6), 409–434.
- EYSENCK, MW, PAYNE, S & DERAKSHAN, N. Trait anxiety, visuospatial processing, and working memory. *Cognition and Emotion*, 2005. 19, 1214–1228.
- FAN W; EVANS R. PPARs and ERRs: molecular mediators of mitochondrial metabolism. *Current Opinion in cell Biology*, (2015). 49–54
- FARREL PA, et al. Increase in plasma Bendorphin/ B-LPH immunoreactivity after treadmill running in humans. *J. Appl Physiol* 1982. 52:1245-1249.
- FEDER, A, NESTLER, EJ e CHARNEY, DS. Psychobiology and molecular genetics of resilience. *Nat. Rev. Neurosci*. 2009.10, 446–457.
- FENTON BW, SHIH E, ZOLTON J. The neurobiology of pain perception in normal and persistent pain. *Pain Manag*. 2015;5(4):297-317.
- FERREIRA JCB, et al. Maximal Lactate Steady State In Running Mice: Effect Of Exercise Training. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2007. 34, 760–765. Blackwell Publishing Asia Original Article Maximal lactate steady state in mice JCB Ferreira et al.

- FIGUEIREDO CP, et al. Role of the glucose-dependent insulinotropic polypeptide and its receptor in the central nervous system: therapeutic potential in neurological diseases. *Behav Pharmacol.* 2010 Sep;21(5-6):394-408.
- FILLINGIM RB. Individual differences in pain: understanding the mosaic that makes pain personal. *Pain.* 2017 Apr;158 Suppl 1(Suppl 1):S11-S18.
- FILLINGIM RB, et al. Sex, gender, and pain: a review of recent clinical and experimental findings. *JPain.* 2009; 10(5):447–485.
- FLATTERS, SJ; BENNETT, GJ. Ethosuximide reverses paclitaxel- and vincristine-induced painful peripheral neuropathy. *Pain*, v. 109, n. 1-2, p. 150-61, maio 2004.
- FRANCO OH, et al. Effects of physical activity on life expectancy with cardiovascular disease. *Arch Intern Med* 2005; 165: 2355–60.
- FREY-HEWITT B, et al. The effect of weight loss by dieting or exercise on resting metabolic rate in overweight men. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1990;14:324–34.
- FRICK KM, GRESACK JE. Sex differences in the behavioral response to spatial and object novelty in adult C57BL/6 mice. *Behav Neurosci.* 2003 Dec;117(6):1283-91.
- FRYE CA, WALF AA. Estrogen and/or progesterone administered systemically or to the amygdala can have anxiety-, fear-, and pain-reducing effects in ovariectomized rats. *Behav Neurosci.* 2004 Apr;118(2):306-13.
- FU, W., et al. Piromelatine ameliorates memory deficits associated with chronic mild stress-induced anhedonia in rats. *Psychopharmacology*, 2016. 233(12), 2229–2239.
- FURUTA S, et al. Involvement of adenosine A1 receptors in forced walking stress-induced analgesia in mice. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2003;25(10):793–6. 160.

- GAO Q, et al. Molecular hydrogen increases resilience to stress in mice. *Sci Rep*. 2017 Aug 29;7(1):9625.
- GENERAAL E, et al Reduced hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in chronic multi-site musculoskeletal pain: partly masked by depressive and anxiety disorders. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014 Jul 9;15:227.
- GIBBONS TE, et al. Voluntary wheel running, but not a diet containing (-)-epigallocatechin-3-gallate and β -alanine, improves learning, memory and hippocampal neurogenesis in aged mice. *Behav Brain Res*. Oct 2014. 1;272:131-40
- GIRARD-TREMBLAY L, et al. Sex differences in the neural representation of pain unpleasantness. *J Pain*. 2014 Aug;15(8):867-77.
- GOKDEMIR O, et al. The effect of exercise on anxiety- and depression-like behavior of aged rats. *Biotech Histochem*. 2020 Jan;95(1):8-17.
- GOLDFARB AH, et al. Beta-endorphin time course response to intensity of exercise: effect of training status. *Int J Sports Med* 3:264-268, 1991.
- GOLDFARB, AH, et al. Serum b-endorphin levels during a graded exercise test to exhaustion. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v.19, n.2, p.78-82, 1987.
- GOLDSTEIN JM, et al. Normal sexual dimorphism of the adult human brain assessed by in vivo magnetic resonance imaging. *Cereb Cortex*. 2001 Jun;11(6):490-7.
- GONZALEZ-CASTAÑEDA RE, et al. Sex-related effects of sleep deprivation on depressive- and anxiety-like behaviors in mice. *Exp Anim*. 2016;65(1):97-107.
- GRAHAM BM, MILAD MR. Inhibition of estradiol synthesis impairs fear extinction in male rats. *Learn Mem*. 2014 Jun 17;21(7):347-50.
- GREEN, T., FLASH, S., & REISS, A. L. Sex differences in psychiatric disorders: What we can learn from sex chromosome aneuploidies. *Neuropsychopharmacology*, 2019. 44(1), 9–21.

- GRESACK JE; SCHAFE GE; FRICK KM. Sex differences in contextual fear conditioning are associated with differential ventral hippocampal ERK activation. *Neuroscience* 159:2009, p.451–467.
- GRINKER RR e SPIEGEL JP. War neuroses. *Prog Neurol Psychiatry*. 1946;1:579-96. PMID: 20991851.
- GROSS C e HEN R, “The developmental origins of anxiety,” *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 5, no. 7, pp. 545–552, 2004.
- GUNGOR NZ, JOHANSEN J. A Chronic Pain in the ACC. *Neuron*. 2019 Jun 5;102(5):903-905.
- GUPTA RR, et al. Estrogen modulates sexually dimorphic contextual fear conditioning and hippocampal long-term potentiation (LTP) in rats(1). *Brain Res*. 2001 Jan 12;888(2):356-365.
- HAGOBIAN TA, BRAUN B. Physical activity and hormonal regulation of appetite: sex differences and weight control. *Exerc Sport Sci Rev*. 2010 Jan;38(1):25-30.
- HAIZLIP KM, HARRISON BC, LEINWAND LA. Sex-based differences in skeletal muscle kinetics and fiber-type composition. *Physiology (Bethesda)*. 2015 Jan;30(1):30-9.
- HAWLEY JA, et al. Integrative biology of exercise. *Cell*. 2014 Nov 6;159(4):738-49.
- HEIJNEN S, et al. Neuromodulation of Aerobic Exercise-A Review. *Front Psychol*. 2016 Jan 7;6:1890.
- HELION C, KRUEGER SM, OCHSNER KN. Emotion regulation across the life span. *Handb Clin Neurol*. 2019;163:257-280.
- HENKE, K. A model for memory systems based on processing modes rather than consciousness. *Nature Reviews Neuroscience* 2010. 11, 523–532.
- HERMAN, J.P. & CULLINAN, W.E. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci*. 20, 78–84 (1997).

- HERMANS EJ, et al. Exogenous testosterone attenuates the integrated central stress response in healthy young women. *Psychoneuroendocrinology*. 2007; 32:1052–1061.
- HODES GE, EPPERSON CN. Sex Differences in Vulnerability and Resilience to Stress Across the Life Span. *Biol Psychiatry*. 2019 Sep 15;86(6):421-432.
- HOLLOSZY JO, et al. Physiological consequences of the biochemical adaptations to endurance exercise. *Ann NY Acad Sci* 1977; 301: 440-50
- HOLMES, A, et al. Behavioral profile of wild mice in the elevated plus-maze test for anxiety. *Physiology & Behavior*, 2000. 71(5), 509–516.
- HOOD, DA, et al. Maintenance of Skeletal Muscle Mitochondria in Health, Exercise, and Aging. *Annual Review of Physiology*, (2018). 81(1).
- HOOK MA, et al. Neurobiological Effects of Morphine after Spinal Cord Injury. *J Neurotrauma*. 2017 Feb;34(3):632-644.
- HOPKINS ME, BUCCI DJ. BDNF expression in perirhinal cortex is associated with exercise-induced improvement in object recognition memory. *Neurobiol Learn Mem*. 2010;94(2):278-284.
- HUANG AM, et al. Compulsive exercise acutely upregulates rat hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *J Neural Transm*, 2006. 113: 803–11.
- HUDSON BB. One-trial learning in the domestic rat. *Genet Psychol Monogr*, 1950. 41: 99–145. pmid:15411972
- HUNTER GR, et al. Exercise Training and Energy Expenditure following Weight Loss. *Med Sci Sports Exerc*. 2015 Sep;47(9):1950-7.
- HWANG DS, et al. Treadmill Exercise Improves Memory Function Depending on Circadian Rhythm Changes in Mice. *Int Neurol J* 2016;20 Suppl 2:S141-149
- IGNÁCIO ZM, et al. Physical Exercise and Neuroinflammation in Major Depressive Disorder. *Mol Neurobiol*, 56 (12), 8323-8335 Dec 2019

- IKEDA, M, IWANAGA, M & SEIWA, H. Test anxiety and working memory system. *Perceptual and Motor Skills*, 1996. 82, 1223–1231.
- INGLIS A, et al. Strain and sex-based glucocorticoid & behavioral differences between KK/HIJ and C57BL/6J mice. *Physiol Behav*. 2019 Oct 15;210:112646.
- IVERSEN VM, et al. Resistance training vs general physical exercise in multidisciplinary rehabilitation of chronic neck pain: A randomized controlled trial. *J Rehabil Med*. 2018 Aug 22;50(8):743-750.
- IZQUIERDO, J et al. Mechanisms for memory types differ. *Nature*, v. 393, p.635-636, 1998.
- IZQUIERDO, I.A. Aprendizaje y memoria. In: Cingolani, H.E.; Houssay, A.B. *Fisiología humana de Bernardo A. Houssay*. Buenos Aires, El Ateneo, 1989a.
- IZQUIERDO M, et al. Maximal strength and power, muscle mass, endurance and serum hormones in and road cyclists. *J Sports Sci* 2004; 22 (5): p. 465-78.
- IZQUIERDO, I, et al. Separate mechanisms for short and long-term memory. *Behavioral Brain Research*, v.103, p. 1-11, 1999.
- JACKSON, ED, et al. Stress Differentially Modulates Fear Conditioning in Healthy Men and Women. *Biological Psychiatry*, 2006. 59(6), 516–522.
- JAGGERS JR. Exercise and Positive Living in Human Immunodeficiency Virus/AIDS. *Nurs Clin North Am*. 2018 Mar;53(1):1-11
- JAFARI, MR, ZARRINDAST, MR & DJAHANGUIRI, B. Influence of cholinergic system modulators on morphine state-dependent memory of passive avoidance in mice. *Physiology & Behavior*, 2006. 88(1-2), 146–151.
- JARVIK ME, KOPP R. An improved one-trial passive avoidance learning situation. *Psychol Rep* 1967. 21: 221–224.

- JIANG HX, et al. Inhibition of Fatty Acid Amide Hydrolase Improves Depressive-Like Behaviors Independent of Its Peripheral Antinociceptive Effects in a Rat Model of Neuropathic Pain. *Anesth Analg*. 2019 Aug;129(2):587-597.
- KANDEL et al. *Princípios de Neurociências*. Artmed. 5ª ed. 2014.
- KARLSSON SA, et al. Effects of sex and gonadectomy on social investigation and social recognition in mice. *BMC Neurosci*. 2015 Nov 25;16:83.
- KENNARD JA e WOODRUFF-PAK DS. A comparison of low- and high-impact forced exercise: Effects of training paradigm on learning and memory. *Physiol Behav*. 2012 June 25; 106(4): 423–427
- KEOGH E, HERDENFELDT M. Gender, coping and the perception of pain. *Pain* 2002;97:195.
- KEOGH E. Sex Differences in Pain. *Reviews in Pain*. Dez 2018. 2(2): 4–7.
- KERAMIOTOU K, et al. The impact of upper limb exercise on function, daily activities and quality of life in systemic lupus erythematosus: a pilot randomised controlled trial. *RMD Open*. 2020 Jan;6(1). pii: e001141
- KHABOUR OF, et al. Changes in spatial memory and BDNF expression to concurrent dietary restriction and voluntary exercise. *Hippocampus* 2009. 20: 637–45
- KIM J e GORMAN J, “The psychobiology of anxiety,” *Clinical Neuroscience Research*, vol. 4, no. 5-6, pp. 335–347, 2005.
- KIM SE, et al. Treadmill Exercise Alleviates Circadian Rhythm Disruption-Induced Memory Deficits by Activation of Glucocorticoid Receptor and Brain-Derived Neurotrophic Factor-Dependent Pathway. *Int Neurorol J*. 2019 Feb;23(Suppl 1):S40-49.
- KIM SS, et al. Neurabin in the anterior cingulate cortex regulates anxiety-like behavior in adult mice. *Mol Brain*. 2011 Jan 19;4:6.

- KIM S, et al. Roles of myokines in exercise-induced improvement of neuropsychiatric function. *Pflugers Arch*. 2019 Mar;471(3):491-505.
- KLAPERSKI S, et al. Does the level of physical exercise affect physiological and psychological responses to psychological stress in women? *Psychol Sport Exerc* 2013; 14: 266–274.
- KLEMPIN F, et al. Serotonin is required for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. *J Neurosci*. 2013 May 8;33(19):8270-5.
- KNOX, D; SCHACHT, C. *Choices in Relationships: An Introduction to Marriage and the Family*. 11 ed. Cengage Learning; 2011. p. 64–66.
- KOHUT ML, BOEHM GW, MOYNIHAN JA. Moderate exercise is associated with enhanced antigen-specific cytokine, but not IgM antibody production in aged mice. *Mech Ageing Dev*. Aug 2001. 122(11):1135-50
- KOLTYN KF. Analgesia following exercise: a review. *Sports Med* 2000; 29: 85-98.
- KOLTYN, K., et al. Effect of isometric exercise on pain perception and blood pressure in men and women. *Medicine in Science Sports and Exercise*, 2001. 33, 282-290.
- KOLTYN KF. Exercise-induced hypoalgesia and intensity of exercise. *Sports Med*. 2002;32(8):477-87.
- KOMADA M, TAKAO K, MIYAKAWA T. Elevated plus maze for mice. *J Vis Exp*. 2008 Dec 22;(22):1088.
- KONDO M, et al. The 5-HT₃ receptor is essential for exercise-induced hippocampal neurogenesis and antidepressant effects. *Mol Psychiatry* 2014.
- KORSAGER LM, MATCHKOV VV. Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. *Medicina (Kaunas)*. 2016;52(1):19-27.
- KRAEUTER AK, GUEST PC, SARNYAI Z. The Elevated Plus Maze Test for Measuring Anxiety-Like Behavior in Rodents. *Methods Mol Biol*. 2019;1916:69-74.

- KUMAR A, et al. Distinct signaling pathways are activated in response to mechanical stress applied axially and transversely to skeletal muscle fibers. *J Biol Chem* 2002; 277 (48): 46493-503
- LAI SM, et al. Therapeutic exercise and depressive symptoms after stroke. *J Am Geriatr Soc.* 2006;54:240–7
- LAMPREA MR, et al. Dissociation of memory and anxiety in a repeated elevated plus maze paradigm: forebrain cholinergic mechanisms. *Behav Brain Res.* 2000 Dec 20;117(1-2):97-105.
- LAWTON, C.A. 1994. Gender differences in way-finding strategies: Relationship to spatial ability and spatial anxiety. *Sex Roles* 30: 765–779.
- LEE HK, et al. The effect of exercise on prevention of the common cold: a meta-analysis of randomized controlled trial studies. *Korean J Fam Med.* 2014 May;35(3):119-26.
- LEE, TH, et al. Potential exerkinases for physical exercise-elicited pro-cognitive effects: Insight from clinical and animal research. *Int Rev Neurobiol.* 2019;147:361-395.
- LEMLEY KJ, et al. Pain relief after isometric exercise is not task-dependent in older men and women. *Med Sci Sports Exerc* 2014; 46: 185-191.
- LEONE, S, et al. Behavioural phenotyping of male growth hormone-releasing hormone (GHRH) knockout mice. *Growth hormone & IGF research* (2014). Oct;24(5):192-7
- LEVY LJ; ASTUR RS; FRICK KM. Men and women differ in object memory but not performance of a virtual radial maze. *Behav Neurosci* 119:2005, p.853–862.
- LI B, et al. Interval and continuous exercise overcome memory deficits related to β -Amyloid accumulation through modulating mitochondrial dynamics. *Behav Brain Res.* 2019 Aug 22:112171.

- LIU YF, et al. Differential effects of treadmill running and wheel running on spatial or aversive learning and memory: roles of amygdalar brain-derived neurotrophic factor and synaptotagmin I. *J Physiol*. 2009 Jul 1;587(Pt 13):3221-31.
- LIU, P., et al. Dopamine D3 receptor knockout mice exhibit abnormal nociception in a sex-different manner. *Journal of Neuroscience Research*, 2016. 95(7), 1438–1445.
- LOHMAN TG, et al. Relationships among fitness, body composition, and physical activity. *Med Sci Sports Exerc*. 2008 Jun;40(6):1163-70.
- LOKE H, HARLEY V, LEE J. Biological factors underlying sex differences in neurological disorders. *Int J Biochem Cell Biol*. 2015 Aug;65:139-50.
- LOVGREN M, et al. Symptoms and problems with functioning among women and men with inoperable lung cancer: A longitudinal study. *Lung Cancer* 2008;60:113–124.
- LU, W, et al. Agmatine inhibits morphine-induced memory impairment in the mouse step-down inhibitory avoidance task. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2010. 97(2), 256–261.
- MACDONALD C, et al Interleukin-6 release from human skeletal muscle during exercise: relation to AMPK activity. *J Appl Physiol (1985)*. 2003 Dec;95(6):2273-7.
- MAENG LY, et al. Estradiol shifts interactions between the infralimbic cortex and central amygdala to enhance fear extinction memory in female rats. *J Neurosci Res*. 2017 Jan 2;95(1-2):163-175.
- MALEKMOHAMADI, N., et al. Effects of Clozapine and Sulpiride on Morphine State-Dependent Memory in the Step-Down Passive Avoidance Test. *Pharmacology*, 2006. 79(3), 149–153.
- MANG CS, et al. Promoting neuroplasticity for motor rehabilitation after stroke: considering the effects of aerobic exercise and genetic variation on brain-derived neurotrophic factor. *Phys Ther*. 2013 Dec;93(12):1707-16.

- MANGO D, et al. The positive allosteric modulator at mGlu2 receptors, LY487379, reverses the effects of chronic stress-induced behavioral maladaptation and synaptic dysfunction in the adulthood. *Synapse*. 2019 Sep;73(9):e22101.
- MARTIN SA, et al. Effects of voluntary wheel running on LPS-induced sickness behavior in aged mice. *Brain Behav Immun*. Mar (2013). 29:113-23.
- MARTIN LJ, et al. Male-Specific Conditioned Pain Hypersensitivity in Mice and Humans. *Curr Biol*. 2019 Jan 21;29(2):192-201.e4.
- MARQUES AA, et al. Gender Differences in the Neurobiology of Anxiety: Focus on Adult Hippocampal Neurogenesis. *Neural Plast*. 2016;2016:5026713.
- MASTEN AS, COATSWORTH JD. The development of competence in favorable and unfavorable environments. Lessons from research on successful children. *Am Psychol*. 1998 Feb;53(2):205-20.
- MAYER J, et al. Exercise, food intake and body weight in normal rats and genetically obese adult mice. *Am J Physiol*. 1954 Jun;177(3):544-8.
- MCBURNEY, DH, et al. Superior spatial memory of women: Stronger evidence for the gathering hypothesis. *Evol. Hum. Behav*. 1997. 18: 165–174.
- MCBETH J, et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal stress axis function and the relationship with chronic widespread pain and its antecedents. *Arthritis Res Ther*. 2005;7(5):R992-R1000.
- MCCORMICK, CM, et al. Individual differences in cortisol levels and performance on a test of executive function in men and women. *Physiology & Behavior*, (2007). 91(1), 87–94.
- MCDERMOTT, CM, et al. Estradiol replacement enhances fear memory formation, impairs extinction and reduces COMT expression levels in the hippocampus of ovariectomized female mice. *Neurobiology of Learning and Memory*, (2015). 118, 167–177.

- MCHENRY J, et al. Sex differences in anxiety and depression: role of testosterone. *Front Neuroendocrinol.* 2014 Jan;35(1):42-57.
- MCMULLAN RC, et al. Long-term exercise in mice has sex-dependent benefits on body composition and metabolism during aging. *Physiol Rep.* 2016. Nov;4(21). pii: e13011.
- MENESES A, LIY-SALMERON G. Serotonin and emotion, learning and memory *Rev Neurosci* . 2012;23(5-6):543-53. doi: 10.1515/revneuro-2012-0060.
- MESS LM, et al. Low-Intensity Exercise in Mice Is Sufficient to Protect Retinal Function During Light-Induced Retinal Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2019;60(5):1328-1335.
- MICHAEL MW, et al. Running throughout middle-age improves memory function, hippocampal neurogenesis and BDNF levels in female C57Bl/6J mice. *Dev Neurobiol.* 2012 June ; 72(6): 943–952.
- MICHELI L, TIRONE F. Depression and adult neurogenesis: positive effects of the antidepressant fluoxetine and physical exercise. *Brain Research Bulletin*, 2018.
- MIFFLIN KA, et al. Voluntary wheel running reveals sex-specific nociceptive factors in murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *Pain.* 2019 Apr;160(4):870-881.
- MILLER KK, et al. Low-dose transdermal testosterone augmentation therapy improves depression severity in women. *CNS Spectr.* 2009; 14:688–694.
- MIKOLAJCZAK ME. et al. Resilience and hypothalamic-pituitary-adrenal axis reactivity under acute stress in young men, *Stress* 11 (6) (2008) 477–482.
- MOGIL JS. Sex differences in pain and pain inhibition: multiple explanations of a controversial phenomenon. *Nat Rev Neurosci.* 2012; 13(12):859–866.
- MONDAL H, MISHRA SP. Effect of BMI, Body Fat Percentage and Fat Free Mass on Maximal Oxygen Consumption in Healthy Young Adults. *J Clin Diagn Res.* 2017 Jun;11(6):CC17-CC20.

- MORAN TP. Anxiety and working memory capacity: A meta-analysis and narrative review. *Psychol Bull.* 2016 Aug;142(8):831-864.
- MOREIRA H, et al. Cardiorespiratory fitness and body composition in postmenopausal women. *J Hum Kinet.* 2014 Nov 12;43:139-48.
- MORGAN JA, et al. The effects of aerobic exercise on depression-like, anxiety-like, and cognition-like behaviours over the healthy adult lifespan of C57BL/6 mice. *Behav Brain Res.* 2018 Jan 30;337:193-203.
- MORIYA M, AOKI C, SAKATANI K. Effects of Physical Exercise on Working Memory and Prefrontal Cortex Function in Post-Stroke Patients. *Adv Exp Med Biol.* 2016;923:203-208.
- MORRIS JK, et al. Aerobic exercise for Alzheimer's disease: A randomized controlled pilot trial. *LoS One.* 2017 Feb 10;12(2):e0170547.
- MUL, JD. et al. Voluntary wheel running promotes resilience to chronic social defeat stress in mice: a role for nucleus accumbens Δ FosB. *Neuropsychopharmacol* 43, 1934–1942 (2018).
- MUNIVE V, SANTI A, TORRES-ALEMAN I. A Concerted Action Of Estradiol And Insulin Like Growth Factor I Underlies Sex Differences In Mood Regulation By Exercise. *Sci Rep.* 2016 May 12;6:25969.
- NAUGLE KM, FILLINGIM RB, RILEY JL. A meta-analytic review of the hypoalgesic effects of exercise. *J Pain* 2012; 13: 1139-1150.
- NAUGLE KM, NAUGLE KE, RILEY JL. Reduced Modulation of Pain in Older Adults After Isometric and Aerobic Exercise. *J Pain.* 2016 Jun;17(6):719-28.
- NAUGLE KM, et al. Intensity thresholds for aerobic exercise-induced hypoalgesia. *Med Sci Sports Exerc.* 2014 Apr;46(4):817-25.
- NAUGLE, KM.; FILLINGIM, RB.; III, JLR. A meta-analytic review of the hypoalgesic effects of exercise. *J Pain*, v. 13, n. 12, p. 1139–1150, 2013.

NEELAKANTAN H, WARD SJ, WALKER EA. Effects of paclitaxel on mechanical sensitivity and morphine reward in male and female C57Bl6 mice. *Exp Clin Psychopharmacol*. 2016 Dec;24(6):485-495.

NEES F, et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis feedback sensitivity in different states of back pain. *Psychoneuroendocrinology*. 2019 Mar;101:60-66.

NEVES, FILHO e MENEZES. Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP. 2013. Disponível em <http://www.fo.usp.br/wp-content/uploads/Manual-Cuidados-com-Animais.pdf>

Acesso em 09/07/2021

NUMAKAWA, T, et al. Protective action of neurotrophic factors and estrogen against oxidative stress-mediated neurodegeneration. *J. Toxicol*. 2011, 2011, 405194.

OBERT J, et al. Popular Weight Loss Strategies: a Review of Four Weight Loss Techniques. *Curr Gastroenterol Rep*. 2017 Nov 9;19(12):61.

O'CONNOR, P. AND COOK, D. Exercise and pain: The neurobiology, measurement, and laboratory study of pain in relation to exercise in humans. *Exercise and Sports Science Reviews* (1999). 29, 119-166

OLESHANSKY M.A., et al. The influence of fitness on neuroendocrine responses to exhaustive treadmill exercise. *Eur J Appl Physiol* 59:405-410, 1990.

ONODERA K, et al. Age-related differences in forced walking stress-induced analgesia in mice. *Drugs Exp Clin Res*. 2001;27(5-6):193-8. 161.

OERTELT-PRIGIONE S, et al. GenderMedDB: an interactive database of sex and gender-specific medical literature. *Biol Sex Differ*. 2014 May 23;5:7.

OSCAI LB, MOLE PA, HOLLOSZY JO. Effects of exercise on cardiac weight and mitochondria in male and female rats. *Am. J. Physiol*. 1971; 220(6): 1944Y8.

- OTSUKA A, et al. Voluntary exercise and increased food intake after mild chronic stress improve social avoidance behavior in mice. *Physiol Behav.* 2015 Nov 1;151:264-71.
- PALMEIRA, CC de A, ASHMAWI, HA e POSSO, IP. Sexo e percepção da dor e analgesia. *Revista Brasileira de Anestesiologia* [online]. 2011, v. 61, n. 6 [Acessado 30 Julho 2021], pp. 820-828. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0034-70942011000600014>>.
- PALMEIRA, CC. de A. ET al. Opioides, sexo e gênero. *Revista Dor* [online]. 2011, v. 12, n. 2 [Acessado 30 Julho 2021] , pp. 182-187. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1806-00132011000200016>>.
- PALLAYOVA M, BRANDEBUROVA A, TOKAROVA D. Update on Sexual Dimorphism in Brain Structure-Function Interrelationships: A Literature Review. *Appl Psychophysiol Biofeedback.* 2019 Dec;44(4):271-284.
- PAULI JR, et al. Novos mecanismos pelos quais o exercício físico melhora a resistência à insulina no músculo esquelético [New mechanisms by which physical exercise improves insulin resistance in the skeletal muscle]. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2009 Jun;53(4):399-408. Portuguese.
- PAWLAK, C. R., et al. The Elevated Plus-Maze Test: Differential Psychopharmacology of Anxiety-Related Behavior. *Emotion Review*, (2012). 4(1), 98–115.
- PEDERSEN BK. Physical activity and muscle-brain crosstalk. *Nat Rev Endocrinol.* 2019 Jul;15(7):383-392.
- PENNSYLVANIA STATE UNIVERSITY [homepage na internet]. Probing Question: Do women have a higher pain threshold than men? [acesso em 30/07/2021]. Disponível em: <https://news.psu.edu/story/141291/2008/11/10/research/probing-question-do-women-have-higher-pain-threshold-men>
- PETRELLA RJ, et al. Can adoption of regular exercise later in life prevent metabolic risk for cardiovascular disease? *Diabetes Care* 2005; 28: 694–701.

- PHILLIPS C. Brain-Derived Neurotrophic Factor, Depression, and Physical Activity: Making the Neuroplastic Connection. *Neural Plast.* 2017;2017:7260130.
- PIETRELLI A, et al. Aerobic exercise upregulates the BDNF-Serotonin systems and improves the cognitive function in rats. *Neurobiol Learn Mem.* 2018 Nov;155:528-542.
- PITCHER MH. The Impact of Exercise in Rodent Models of Chronic Pain. *Curr Osteoporos Rep.* 2018 Aug;16(4):344-359.
- PRICE, J.L. & DREVETS, W.C. Neurocircuitry of mood disorders. *Neuropsychopharmacology* 35, 192–216 (2010).
- PRUT L e BELZUNG C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review, *Eur. J. Pharmacol.* 463 (1–3) (2003) 3–33
- PUJANTE-GIL S, MANZANEDO C, ARENAS MC. Sex differences in behavioral traits related with high sensitivity to the reinforcing effects of cocaine. *Behav Brain Res.* 2021 Jul 29:113505.
- RACHMAN S, CUK M. Fearful distortions. *Behav Res Ther.* 1992 Nov;30(6):583-9.
- RADAK Z, et al. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. *Neurochem Int.* Sep (2006). 49(4):387-92.
- RAMÍREZ-MAESTRE C, ESTEVE R. The Role of Sex/Gender in the Experience of Pain: Resilience, Fear, and Acceptance as Central Variables in the Adjustment of Men and Women With Chronic Pain. *The Journal of Pain*, 2014; 15 (6): 608.
- REZENDE, EL, et al. Effects of size, sex, and voluntary running speeds on costs of locomotion in lines of laboratory mice selectively bred for high wheel-running activity. *Physiol Biochem Zool* 79, 83–99,
- RHUDY JL, WILLIAMS AE. Gender differences in pain: do emotions play a role? *Gend Med.* 2005;2(4):208–226.

- RHUDY JL, MEAGHER MW. Fear and anxiety: divergent effects on human pain thresholds. *Pain*. 2000;84(1):65–75.
- RICHARDSON GE. The metatheory of resilience and resiliency. *J Clin Psychol*. 2002 Mar;58(3):307-21.
- RICHARDSON JS, et al. Verbal learning by major depressive disorder patients during treatment with fluoxetine or amitriptyline. *Int Clin Psychopharmacol*. 1994 Spring;9(1):35-40.
- RIEBE, D. et al. American College Of Sports And Medicine - ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription. 10th ed. Philadelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins; 2018. p. 366.
- RILETT, K. C., et al. Loss of T cells influences sex differences in behavior and brain structure. *Brain, Behavior, and Immunity*, (2015). 46, 249–260.
- RIPAR, AA; EVANGELISTA, FSFQ; PAULA, FV de. Resiliência e gênero. *Psicol inf.*, São Paulo , v. 12, n. 12, p. 33-52, out. 2008 .
- ROBBINS M, DEBERRY J, NESS T. Chronic psychological stress enhances nociceptive processing in the urinary bladder in high-anxiety rats. *Physiol Behav*. 2007 Aug 15;91(5):544-50.
- RODGERS RJ, DALVI A. Anxiety, defence and the elevated plus-maze, *Neurosci. Biobehav. Rev*. 21 (6) (1997) 801–810.
- ROGERS R, et al., Dissociating the therapeutic effects of environmental enrichment and exercise in a mouse model of anxiety with cognitive impairment, 2016
- ROWLAND NE, CERVANTEZ MR, ROBERTSON KL. Temporal relationships between food acquisition and voluntary exercise in mice. *Behav Processes*. 2017 Dec;145:37-43.
- RUFF GE, KORCHIN SJ . Psychological responses of the Mercury astronauts to stress. The threat of impending disaster. Cambridge, MA: MIT Press ; 1964 .

- RUSSELL W.M.S. & BURCH R.L. The Principles of Humane Experimental Technique. 238 pp. Potters Bar, Herts UK: UFAW (1959)
- RUSSO, S, MURROUGH, J e HAN, M. et al. Neurobiology of resilience. *Nat Neurosci* 15, 1475–1484 (2012).
- SACHS-ERICSSON NJ, et al. When Emotional Pain Becomes Physical: Adverse Childhood Experiences, Pain, and the Role of Mood and Anxiety Disorders. *J Clin Psychol.* 2017 Oct;73(10):1403-1428.
- SAKURADA S, et al. Effects of forced walking stress on formalininduced paw licking in mice. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 1999;21(7):467–70.
- SAMPEDRO-PIQUERO P, MORENO-FERNÁNDEZ RD. Building Resilience with Aerobic Exercise: Role of FKBP5. *Curr Neuropharmacol.* 2021;19(8):1156-1160.
- SANTOS, TB dos, et al . Association between brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and depressive disorder: a literature review. *Research, Society and Development, [S. I.]*, v. 10, n. 10, p. e461101019139, 2021.
- SCHMIDT CE, et al. Gender differences in quality of life of patients with rectal cancer: A five-year prospective study. *World J Surg* 2005;29:1630– 1641.
- SEEDAT S, et al. Crossnational associations between gender and mental disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *Arch Gen Psychiatry.* 2009; 66:785–795.
- SELLAMI M, et al. Effects of Acute and Chronic Exercise on Immunological Parameters in the Elderly Aged: Can Physical Activity Counteract the Effects of Aging? *Front Immunol.* 2018 Oct 10;9:2187.
- SERCHOV, T., et al. Enhanced adenosine A1 receptor and Homer1a expression in hippocampus modulates the resilience to stress-induced depression-like behavior. *Neuropharmacology*, (2019). 107834.
- SFORZO GA. OPIOIDS and exercise. An update. *Sports Med.* 1989 Feb;7(2):109-24. Review.

- SHACKMAN, AJ, et al. Anxiety selectively disrupts visuospatial working memory. *Emotion*, (2006). 6, 40–61. <http://dx.doi.org/10.1037/1528-3542.6.1.40>
- SHAFIA S, et al. Effects of moderate treadmill exercise and fluoxetine on behavioural and cognitive deficits, hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction and alternations in hippocampal BDNF and mRNA expression of apoptosis - related proteins in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Neurobiol Learn Mem*. 2017 Mar;139:165-178.
- SHIELDS GS, et al. The effects of acute stress on episodic memory: A meta-analysis and integrative review. *Psychol Bull*. 2017 Jun;143(6):636-675.
- SHIFREN JL, et al. Transdermal testosterone treatment in women with impaired sexual function after oophorectomy. *N Engl J Med*. 2000; 343:682–688.
- SHORES MM, et al. Increased incidence of diagnosed depressive illness in hypogonadal older men. *Arch Gen Psychiatry*. 2004; 61:162–167.
- SHORS TJ, et al. Neurogenesis and helplessness are mediated by controllability in males but not in females. *Biol Psychiatry*. 2007 Sep 1;62(5):487-95.
- SILVERMAN I, EALS M. Sex differences in spatial abilities: evolutionary theory and data. In: Barkow J; Cosmides L; Tooby J; editors. *The adapted mind: evolutionary psychology and the generation of culture*. New York: Oxford University Press.1992, p. 487–503.
- SKINNER BF (1938) *The behavior of organisms*. New York,: Appleton-Century-Crofts. xv, 457 p. p
- SLIVICKI RA, MALI SS, HOHMANN AG. Voluntary exercise reduces both chemotherapy-induced neuropathic nociception and deficits in hippocampal cellular proliferation in a mouse model of paclitaxel-induced peripheral neuropathy. *Neurobiol Pain*. 2019 Aug 27;6:100035..
- SLUKA KA, et al. Regular physical activity prevents development of chronic pain and activation of central neurons. *J Appl Physiol* 2013; 114: 725-733.

- SMITH JC, et al. Interactive effects of physical activity and APOE- ϵ 4 on white matter tract diffusivity in healthy elders. *Neuroimage*. 2016 May 1;131:102-12.
- SOLOMON MB, HERMAN JP. Sex differences in psychopathology: of gonads, adrenals and mental illness. *Physiology & behavior*. 2009; 97:250–258.
- SOLOMON MB, et al. Gonadal hormones modulate the display of conditioned defeat in male Syrian hamsters. *Hormones and behavior*. 2009; 56:423–428.
- SORGE RE, TOTSCH SK. Sex Differences in Pain. *J Neurosci Res*. 2017 Jun;95(6):1271-1281.
- SQUIRE LR. Memory systems. *C R Acad Sci III*. 1998 Feb-Mar;321(2-3):153-6.
- SQUIRE LR. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem*. 2004 Nov;82(3):171-7..
- STERU L, et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. (1985). 85(3): 170 – 367.
- STEVENS, J. S., & HAMANN, S. (2012). Sex differences in brain activation to emotional stimuli: A meta-analysis of neuroimaging studies. *Neuropsychologia*, 50(7), 1578–1593.
- STONER L, et al. Efficacy of Exercise Intervention for Weight Loss in Overweight and Obese Adolescents: Meta-Analysis and Implications. *Sports Med*. 2016 Nov;46(11):1737-1751.
- SU CL, et al. Epigenetic regulation of BDNF in the learned helplessness-induced animal model of depression. *J Psychiatr Res*. 2016 May;76:101-10.
- SUCHAN, B., et al. 2006. Neural substrates of manipulation in visuospatial working memory. *Neuroscience* 139: 351–357.
- SWIFT DL, et al. The Effects of Exercise and Physical Activity on Weight Loss and Maintenance. *Prog Cardiovasc Dis*. 2018 Jul-Aug;61(2):206-213.

- TALIAZ, D. et al. Resilience to chronic stress is mediated by hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *J. Neurosci.* 31, 4475–4483 (2011).
- TAXIER LR, GROSS KS, FRICK KM. Oestradiol as a neuromodulator of learning and memory. *Nat Rev Neurosci.* 2020 Oct;21(10):535-550.
- THIBAUT V, et al. Women and Men in Sport Performance: The Gender Gap has not Evolved since 1983. *J Sports Sci Med.* 2010 Jun 1;9(2):214-23.
- THOMPSON, WR. et al. American College Of Sports And Medicine. Position Stand: the recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness, and flexibility in healthy adults. *Med Sci Sports Exerc.* 1998;30(6):p. 975–91.
- THORNDIKE EL. Animal intelligence: an experimental study of the associative processes in animals. New York; London: The Macmillan Company. (1898) 109 p. p.
- TREFTS E, WILLIAMS AS, WASSERMAN DH. Exercise and the Regulation of Hepatic Metabolism. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2015;135:203-25.
- TREJO JL, LLORENS-MARTÍN MV, TORRES-ALEMÁN I. The effects of exercise on spatial learning and anxiety-like behavior are mediated by an IGF-I-dependent mechanism related to hippocampal neurogenesis. *Mol Cell Neurosci.* 2008 Feb;37(2):402-11.
- TSIGOS C, CHROUSOS GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res.* 2002 Oct;53(4):865-71.
- TSIGOS, C., et al. Dose-dependent effects of recombinant human interleukin-6 on glucose regulation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (1997). 82, 4167–4170
- TURNER-COBB JM, et al. Sex differences in hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in patients with chronic pain syndrome. *Stress.* 2010 Jul;13(4):292-300. doi: 10.3109/10253890903524785. PMID: 20536331.

- U.S. Department Of Health And Human Services. Physical Activity and Health: A Report of the Surgeon General. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, 1996
- VAN PRAAG H, et a. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Nov (1999).9;96(23):13427-31.
- VAN PRAAG, H., KEMPERMANN, G., & GAGE, F. H. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nature Neuroscience*, (1999). 2(3), 266–270.
- VAYNMAN S, YING Z, GOMEZ-PINILLA F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur. J. Neurosci.* (2004). 20, 2580–2590
- VOGEL T, et al. Health benefits of physical activity in older patients: a review. *Int J Clin Pract* (2009). 63:303–320.
- VOSS MW; et al. Bridging animal and human models of exercise-induced brain plasticity, *Trends Cogn.Sci.*17(2013), p. 525–544.
- VOYER D, VOYER SD, SAINT-AUBIN J. Sex differences in visual-spatial working memory: A meta-analysis. *Psychon Bull Rev.* 2017 Apr;24(2):307-334.
- XIA, SH., et al. Chronic Pain Impairs Memory Formation via Disruption of Neurogenesis Mediated by Mesohippocampal BDNF Signaling. *Biological Psychiatry*. 2020 Oct 15;88(8):597-610.
- XU X, et al. Sex-specific effects of bisphenol-A on memory and synaptic structural modification in hippocampus of adult mice. *Horm Behav.* 2013 May;63(5):766-75.
- YAGI S, GALEA LAM. Sex differences in hippocampal cognition and neurogenesis. *Neuropsychopharmacology*. 2019 Jan;44(1):200-213.

- YANG Z, et al. PGC-1 mediates the regulation of metformin in muscle irisin expression and function. *Am J Transl Res*. 2015 Oct 15;7(10):1850-9. eCollection 2015
- YUAN TF, et al. Neural Mechanisms of Exercise: Anti-Depression, Neurogenesis, and Serotonin Signaling. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2015;14(10):1307-11.
- WALF AA, FRYE CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc*. 2007;2(2):322-8.
- WALSH, JJ e TSCHAKOVSKY, ME. Exercise and circulating BDNF: Mechanisms of release and implications for the design of exercise interventions. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. (2018). Nov;43(11):1095-1104.
- WAN Y, HAN JS, PINTAR JE. Electroacupuncture analgesia is enhanced in transgenic nociceptin/orphanin FQ knock-out mice. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2009 Jun 18;41(3):376-9.
- WANG G, et al. Activation of 6-8-week-old new mature adult-born dentate granule cells contributes to anxiety-like behavior. *Neurobiol Stress*. 2021 Jun 20;15:100358.
- WANG, R & HOLSINGER, RMD. Exercise-Induced Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression: Therapeutic Implications for Alzheimer's Dementia. *Ageing Research Reviews*. (2018). Dec;48:109-121.
- WARBURTON DE, NICOL CW, BREDIN SS. Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ* 2006; 174: 801–9.
- WIPFLI B, et al. An examination of serotonin and psychological variables in the relationship between exercise and mental health. *Scand J Med Sci Sports*. 2011 Jun;21(3):474-81.
- WISE EA, et al. Gender role expectations of pain: relationship to experimental pain perception. *Pain*. 2002 Apr;96(3):335-342.
- WOLF OT, et al. The relationship between stress induced cortisol levels and memory differs between men and women. *Psychoneuroendocrinology*. 2001;26:711–20.

- WON S, et al. Sexual dimorphism in cognitive disorders in a murine model of neuropathic pain. *Behav Brain Funct.* 2020 Jan 4;16(1):1.
- World Health Organization. Physical activity (2014). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity> Acesso em 27 de março de 2019.
- World Health Organization. Global Recommendations on Physical Activity for Health. Geneva: World Health Organization; 2010. <https://www.who.int/dietphysicalactivity/global-PA-recs-2010.pdf> Acesso em 27 de março de 2019.
- WRANN CD, et al. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 α /FNDC5 pathway. *Cell Metab.* 2013 Nov 5;18(5):649-59.
- WU MV, LUNA VM, HEN R. Running rescues a fear-based contextual discrimination deficit in aged mice. *Front Syst Neurosci.* 2015 Aug 11;9:114.
- Wu, CL, et al. Sonic hedgehog mediates BDNF-induced neuroprotection against mitochondrial inhibitor 3-nitropropionic acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009, 385, 112–117.
- ZARRINDAST, MR., et al. Influence of intracerebroventricular administration of cannabinergic drugs on morphine state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Behavioural Pharmacology*, (2006). 17(3), 231–237.
- ZARROUF FA, et al. Testosterone and depression: systematic review and meta-analysis. *J Psychiatr Pract.* 2009; 15:289–305.
- ZEIDAN MA, et al. Estradiol Modulates Medial Prefrontal Cortex and Amygdala Activity During Fear Extinction in Women and Female Rats. *Biological Psychiatry.* 2011,70:920–7.
- ZOLADZ JA, et al. Moderate-intensity interval training increases serum brain-derived neurotrophic factor level and decreases inflammation in Parkinson's disease patients. *J Physiol Pharmacol.* (2014). Jun;65(3):441-8.

ZORAWSKI, M., et al. Sex, stress, and fear: Individual differences in conditioned learning. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*, (2005). 5(2), 191–201.